

**ENZYMBIOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DIE WIRKUNGEN VON TRIPARANOL
AUF ENZYME DES ENERGIELIEFERNDEN STOFFWECHSELS
DER EPIDERMIS DES MEERSCHWEINCHENS**

Dieter Rüger

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554601_0026

AUS DER DERMATOLOGISCHEN KLINIK UND POLIKLINIK
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. O. Braun-Falco

ENZYMBIOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DIE WIRKUNGEN VON TRIPARANOL
AUF ENZYME DES ENERGIELIEFERNDEN STOFFWECHSELS
DER EPIDERMIS DES MEERSCHWEINCHENS

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Dieter Rüger
aus
Wurzen

München 1973

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. G. Rassner

Mitberichterstatter: Prof. Dr. O. Braun-Falco

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 5.6.1973



1. ALLGEMEINER TEIL

1.1.	Kurzer Abriß des Problems und Begründung der Arbeit	1
1.2.	Histologie der Epidermis	3
1.3.	Epidermale Verhornung	3
1.4.	Cholesterin-Synthese	5
1.5.	Triparanol	
1.5.1.	Bisherige Untersuchungen des Zellstoffwechsels	8
1.5.2.	Wirkungen am Hautorgan	10
1.6.	Zellstoffwechsel	
1.6.1.	Allgemeine Organisation und Enzymbiochemie	13
1.6.2.	Energieliefernder Stoffwechsel der Meerschweinchenepidermis	15
1.7.	Definition und Abgrenzung der Arbeit	20

2. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

2.1.	Material und Methodik	
2.1.1.	Tiermaterial	23
2.1.2.	Triparanol-Anwendung	23
2.1.3.	Gewinnung des Extrakts	23
2.1.4.	Bestimmung der Enzymaktivitäten	24
2.1.5.	Statistik	27
2.1.6.	Abkürzungen	27
2.2.	Versuchsplanung und Darstellung der Ergebnisse	29
2.3.	Ergebnisse	36

3. DISKUSSION

3.1.	Material und Methodik	43
3.2.	Versuchsordnung und Methode der Auswertung	43
3.3.	Wirkung von Triparanol	
3.3.1.	Besprechung der eigenen Ergebnisse	45
3.3.2.	Eigene Ergebnisse in Beziehung zu den Befunden anderer Autoren	48

4. ZUSAMMENFASSUNG

50

5. LITERATURVERZEICHNIS

51

1. ALLGEMEINER TEIL

1.1. Kurzer Abriß des Problems und Begründung der Arbeit

Viele pathologische, morphologisch faßbare Veränderungen am Hautorgan spiegeln sich in Abweichungen des zellulären Stoffwechsels vom Normalen wieder (10, 53, 73, 74, 75, 77, 78, 80).

Der energieliefernde Stoffwechsel, Teil des Grundgerüsts jeder zellulären Organisation, wurde in den letzten Jahren am normalen (71, 72, 79) und pathologisch veränderten (10, 73, 74, 75, 77, 78) Hautorgan intensiv erforscht. Glykolyse, Pentosephosphatcyclus, Fettsäureoxydation, Citratcyclus und Atmungskette, Bestandteile dieses Basisstoffwechsels, wurden ebenso wie deren Verbindungsreaktionen zu anderen, mehr synthetischen Stoffwechselwegen, qualitativ und quantitativ, besonders in den epidermalen Zellen, erfaßt. Wir verfügen heute nicht nur über einen Plan dieses Teils der metabolischen Organisation, sondern sind auch in der Lage, durch Bestimmung der Kapazitäten einzelner Stoffwechselabschnitte und ihrer vergleichenden Analyse mit jenen anderer Organe gewebsspezifische Ausprägungen zu erkennen und funktionell zu deuten.

Eine spezifische Fähigkeit der Epidermis und der Haarfollikel ist die Bildung von Keratin, wozu besondere Syntheseleistungen des Protein- und Lipidstoffwechsels erforderlich sind (Übersicht: 11). Untersuchungen verschiedener Autoren (Übersicht 58) haben das geordnete Vorliegen von Cholesterin und Lipiden im verhornten Material gesichert. Umgekehrt sind Verhornungsstörungen bei schuppenden Dermatosen mit Veränderungen im Lipidstoffwechsel vergesellschaftet (94, 95).

Triparanol, eine chemische Substanz, bei welcher eine Hemmung der Cholesterinbiosynthese (28, 30, 42) und Wirkungen auf den Lipidhaushalt (3, 4) nachgewiesen sind, führt zu Verhornungsstörungen ichtyosiformer Symptomatik mit histologisch faßbaren Alterationen des Hautorgans (1, 15, 62, 100).

In dieser Arbeit soll tierexperimentell untersucht werden, ob bei diesen Triparanol induzierten Verhornungsstörungen neben einer Interferenz im Lipidmetabolismus Veränderungen des energieliefernden Stoffwechsels, be-

sonders des Bereichs mit Verbindungen zum Fettstoffwechsel, vorliegen.

Im Gesamtepidermishomogenat werden dazu die Aktivitäten folgender, jeweils verschiedene Stoffwechselwege repräsentierende Enzyme mit biochemischer Methodik quantitativ bestimmt und im Vergleich zur Histologie der Epidermis betrachtet.

GAPDH	-	Glykolyse, unverzweigter Abschnitt
LDH	-	Glykolyse, anaerober Teil
PK	-	Glykolyse, Anschlußstelle zum Aminosäurestoffwechsel
HAD	-	Fettsäureoxydation
G-6-PDH	-	Pentosephosphatcyclus
GDH	-	Verbindung zwischen Glykolyse und Fettstoffwechsel

1.2. Histologie der Epidermis

(Übersichten: 11, 92)

Im Stratum basale, der an die gefäßführende Cutis angrenzenden Zellschicht, laufen die Zellteilungsvorgänge ab. Postmitotische Zellen wandern höher ins Stratum spinosum. Hier und im darauf folgenden Stratum granulosum, das durch das Auftreten von Keratohyalin granula (13) gekennzeichnet ist, werden die bereits im Stratum basale beginnenden Differenzierungsprozesse weitergeführt. In der schmalen Übergangs- oder Intermediärzone vollzieht sich dann die Totalverhornung mit ihren mannigfaltigen zellulären Ab- und Umbauvorgängen (9). Beim Eintritt ins Stratum corneum sind die nun verhornten, platten Zellen fest untereinander verhaftet - Stratum conjunctum -, um bei weiterer Wanderung nach oben allmählich unter Verlust der interzellulären Bindungen (26) - im Stratum disjunctum - der Desquamation insensibilis anheimzufallen. Die Oberfläche bedeckt in dünner Schicht eine Emulsion (43, 58) aus Schweiß (Schweißdrüsen), wasserlöslichen Substanzen, Cholesterin (aus verhornten Zellen) und sonstigen Lipiden (vorwiegend aus Talgdrüsen).

1.3. Epidermale Verhornung

Die Bildung von Hornsubstanzen ist mit erheblichen Syntheseleistungen und mannigfaltigen Umbauvorgängen der sich ausdifferenzierenden, postmitotischen Zellen verknüpft. Innerhalb der Regenerationszeit, bei der Epidermis des Meerschweinchens im Bereich des Rückens 8 Tage, wandeln sich neugebildete Zellen zu Hornzellen um. Sie treten ins Stratum corneum ein und werden später schließlich abgeschilfert. Das verloren gehende Hornmaterial muß laufend wieder ersetzt werden. Die Erneuerung der Hornschicht ist, wie aus ihrer Zusammensetzung ersichtlich, mit hohen Anforderungen an die Synthese von Protein und Lipiden verbunden.

Bestandteile der Hornschicht nach Stüttgen (92):

50% Skleroprotein

23% wasserlösliche niedermolekulare

Zellinhaltsstoffe

20% Lipide

7% Wasser

Die Synthese von Strukturprotein setzt schon im Stratum basale ein (11, 13, 60). Proteinketten lagern sich zu Tonofibrillen zusammen (60), die im Stratum granulosum und in der Intermediärzone unter Mitbeteiligung von Keratohyalin zur Keratinfaser aggregieren (25, 58, 60, 93). Bei der Totalverhornung in der Intermediärzone kommt es durch Abbau der intrazellulären Strukturen zu kleinmolekulen Einheiten (9, 11, 25), die später in der Gesamtheit im wesentlichen die "lockeren, wasserlöslichen, nichtkeratingebundenen Inhaltsstoffe" (11) des verhornten Zellmaterials ausmachen, zum Erlöschen der zellulären Vitalfunktionen. Die Zellmembranen bleiben erhalten (55), das Keratingerüst wird definitiv verfestigt und ubiquitär intra- und interzellulär Zement, eine Art Bindesubstanz, eingelagert (13, 26, 27).

Die Bildung harten Keratins (Haare) verläuft im Prinzip gleich. Die Unterschiede liegen in einer stärkeren Vernetzung der Proteinketten durch höheren Gehalt an S-S Gruppen (Cystin), sowie vermindertem Anteil an Zement und wasserlöslichen Substanzen gegenüber dem weichen epidermalen Keratin (26).

Der epidermale Lipidstoffwechsel ist sehr komplex (Übersicht: 58). Die Lipide, deren Synthese schon in basalen Zellschichten einsetzt (99), werden im Laufe der Zellreifung vielfachen Ab- und Umbauvorgängen unterworfen. So führt die Disintegration der Zellorganellen während der katabolen Phase der Differenzierung (25) in der Intermediärzone zur Freisetzung der Phospholipid-Cholesterin-Komplexe aus den zerfallenden Membranen. Dabei werden Phospholipide partiell abgebaut, freiwerdende Fettsäuren mit Cholesterin verestert, und nach diesen Umstrukturierungen in die Hornschicht endgültig eingebaut.

Im makromolekularen Gerüst von Keratin, Zement und Zellmembranen, dessen Konstruktion hauptsächlich die mechanischen Eigenschaften der Hornschicht bestimmen, sind Lipide als wesentliche Elemente der Strukturen nachgewiesen (26, 27, 44, 93).

Mercer (55) stellte nach Lipidextraktion eine Abnahme der Plastizität

epidermalen Keratins fest und diskutiert ihre Funktion als "Weichmacher".

Nach Swanbecks Untersuchungen (93) sind die zur Keratinfaser aggregierten Tonofibrillen von einer Lipidschicht ummantelt. Cholesterin, Phospholipide und Triglyceride in festgesetzten Relationen zueinander bilden radial zum Proteinzyylinder der Keratinfaser gerichtete Ketten und treten mit den Proteinen des Keratins in feste, geordnete Beziehung unter Bildung von Proteolipiden.

Im Zement liegen Glycoproteo- und Proteolipide vor (26, 27). Phospholipide und Cholesterin, ebenfalls mit Protein als Proteolipide vergesellschaftet, sind als Strukturbildner der Zellmembranen hinreichend bestätigt (44).

Die Verwendung der Lipide als Konstruktionselemente im verhornten, der Desquamation anheimfallenden Material steht in Einklang mit der hohen epidermalen Syntheserate (26). Die Cholesterinsynthese der Epidermis, neben der Leber die Hauptbildungsstätte des Cholesterins (36, 37), beträgt das Zehnfache der Cutis (59) und ist durch Nachweis des Einbaus Isotopen-markierten Acetats ins Cholesterinmolekül gesichert (14, 34, 59, 89).

Eine direkte Korrelation der Freisetzung von Cholesterin aus den verhornten Zellen der epidermalen Oberfläche mit der Verhornungsrate ist nachgewiesen (43, 52) und unterstreicht die stete Beteiligung dieses Sterins an der Hornbildung.

1.4. Cholesterin-Synthese

(Übersichten: 43, 44)

Die Biosynthese des Cholesterins, ausgehend von Acetyl-CoA, verläuft, enzymatisch reguliert, nach festgelegtem Plan.

Sie bedarf der Bereitstellung energiereichen Phosphats (ATP), und ist in ihrem gesamten Verlauf mit zahlreichen Reduktionen verknüpft, die NADPH₂ als Koenzym erfordern. Aus je 3 Molekülen Acetyl-CoA entstehen C₅-Verbindungen, die letztlich zur C₃₀-Einheit, Squalen, kondensieren. Squalen zyklisiert unter Bildung des Sterinringsystems zu Lanosterin.

Die oxydative Abspaltung von drei Methylgruppen und die Verschiebung

der Doppelbindung des Sterinringsystems, sowie die Hydrierung der C-24, 25-Doppelbindung der Seitenkette führen weiter zum Cholesterin. Die Umsetzungen vollziehen sich je nach Gehalt der einzelnen Gewebe an katalysierenden Enzymsystemen in unterschiedlicher Reihenfolge und ermöglichen das Auftreten einer Vielzahl von Zwischenprodukten im Abschnitt zwischen Lanosterin und Cholesterin. Abb. 1 Seite 7 gibt eine Übersicht über die möglichen Synthesewege und dabei entstehende Cholesterinvorstufen.

In der Epidermis steht, im Gegensatz zur Leber, die Reduktion der C-24, 25-Doppelbindung der Seitenkette an früher Stelle der Reaktionsfolgen. Der Anteil der Sterine mit gesättigter Seitenkette im Gesamt-Steringehalt der Haut ist daher relativ hoch.

Wie zahlreiche Untersuchungen (2, 28, 30, 42) zeigen, scheint ein einzelnes Enzymsystem, die "Seitenkettenreduktase" unspezifisch auf die Konfiguration im Sterinring bei allen Intermediärstufen die Reduktion der C-24, 25-Doppelbindung unter Verwendung von NADPH_2 (2, 22) zu katalysieren.

Während bei Mensch, Ratte und Meerschweinchen die Enzymsysteme in der verhornenden Epidermis vollständig vorhanden sind und zur Bildung des Cholesterins führen, bleibt in den Talgdrüsen die Synthese beim Squalen (Mensch, erwachsener), bzw. bei $\Delta 7$ -Cholestenin (Ratte und Meerschweinchen) stehen. Squalen (Mensch) und $\Delta 7$ -Cholestenin im epidermalen Oberflächenfilm geben daher Aufschluß über die Funktion der Talgdrüsen, Cholesterin dagegen (zu 60% mit Fettsäuren verestert) über die Prozesse der epidermalen Verhornung.

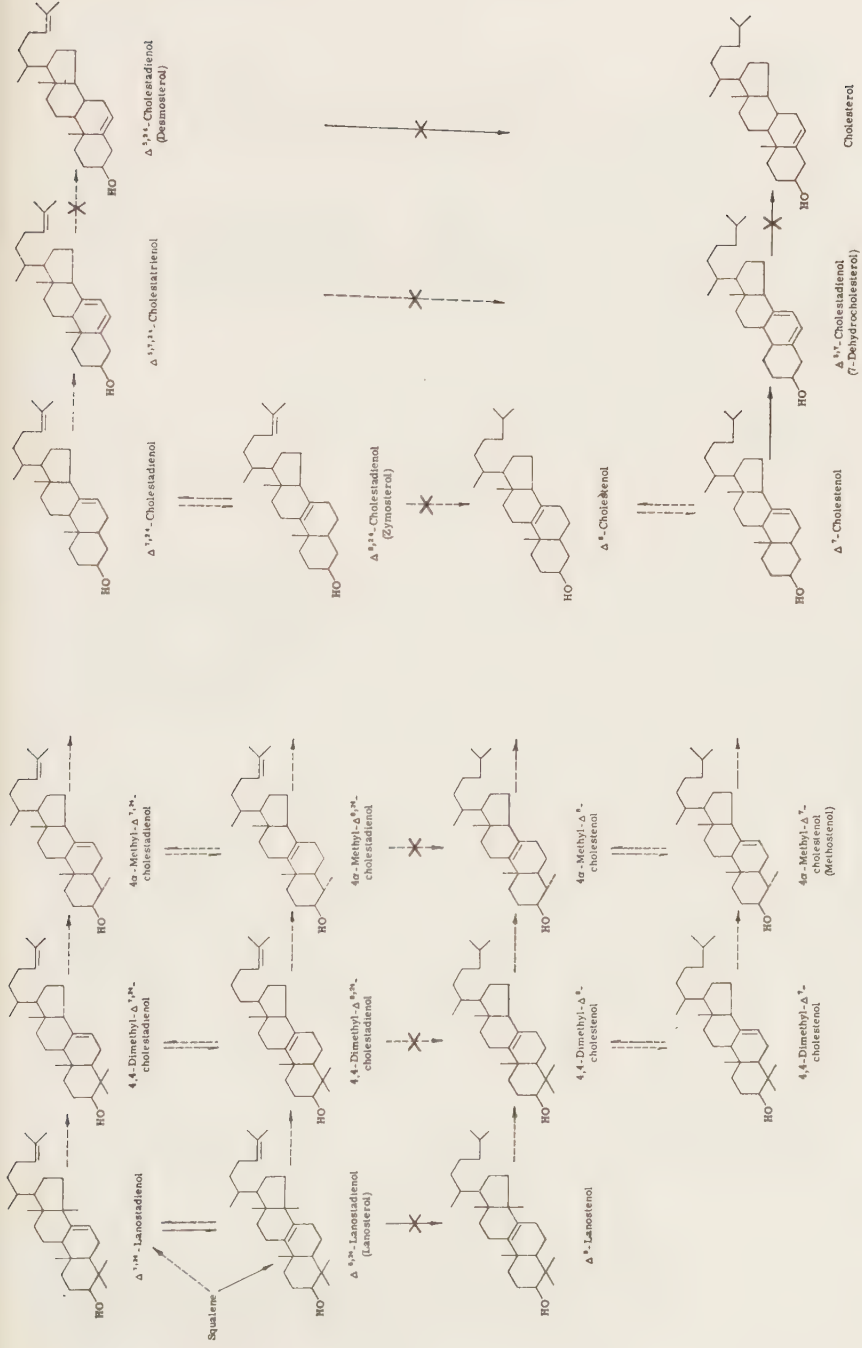
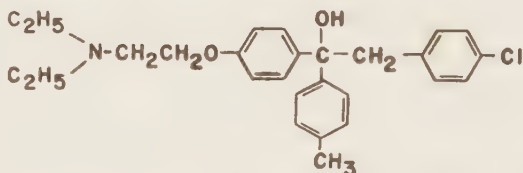


Abb.1. Biosynthese des Cholesterins nach Zyclisierung von Squalen zu Lanosterin (aus Kandutsch[43]):
 mögliche Synthesewege und dabei entstehende Cholesterinvorstufen.
 X = Blockierung durch Triparanol.

1.5. Triparanol

1.5.1. Bisherige Untersuchungen im Zellstoffwechsel

Triparanol, als MER-29 (USA) und MERRELL-29 (Deutschland) ehemals als Therapeutikum der Hypercholesterinämie angewandt, ist nach Palopoli (61): 1-[(4-diäthylaminoethoxy)phenyl] -1-(p-tolyl)-2-(p-chloro-phenyl)äthanol:



In seiner molekularen Struktur steht es in naher Verwandtschaft zu Chlorotrianisen, einem synthetischen Östrogen und Ethamoxytriphetol, einem Östrogenantagonist, ist aber selbst weitgehendst (97) frei von östrogenen oder antiöstrogenen Wirkungen. Wegen gravierender Nebenwirkungen auf Haut und Linse bei Mensch und Tier (15, 46, 49, 62, 100) wurde es bald wieder aus dem Handel gezogen.

Der vornehmlichste Effekt, schon bei geringer Dosierung in vivo bei Meerschweinchen (30), Ratte (2, 20, 28, 42) und Mensch (29, 90, 91) nachgewiesen, ist die Blockierung der Cholesterinbiosynthese in ihren Endstufen durch Reduktionshemmung der C-24, 25-Doppelbindung in der Seitenkette der Cholesterinvorläufer. Die Hemmung der Seitenkettenreduktase ist auch nach Zusatz von Triparanol zum Zellhomogenat in vitro zu beobachten (2, 21, 22) und mit der Annahme einer direkten Blockierung des Enzymsystems vereinbar, da im Homogenat Protein nicht mehr synthetisiert wird, und nur eine direkte Hemmung vorhandenen Enzyms zum Tragen kommt, nicht aber eine Verminderung der Enzymkonzentration durch Blockierung der Enzymprotein-synthese.

Es kommt zu einer signifikanten Anhäufung der Intermediärprodukte mit ungesättigter Seitenkette im Gewebe und Serum von Mensch und Versuchstier, insbesondere von Demosterin (= C-24, 25-Dehydrocholesterin), bei Ver-

minderung des Cholesterins (4, 7, 20, 90, 91).

Wie am veränderten Gehalt von Serum und Gewebe an den Fettfraktionen erkennbar, führt Triparanol zur Interferenz im gesamten Fettstoffwechsel. Rattenleber baut radioaktiv markiertes Acetat vermehrt in Fettsäuren, vermindert in Cholesterin ein (7). Im Serum von Mensch (29, 39, 40, 48, 50, 51, 82, 90, 91) und Ratte (3, 4, 5, 6, 29) findet sich bei starkem Abfall von Cholesterin und Anstieg von Desmosterin eine Erniedrigung der Gesamtsterine, eine Erhöhung der Triglyceride und ein Abfall der Phospholipide. Nach längerer Applikation spiegeln sich die Veränderungen des Serums im Gewebe wieder (3, 4, 5, 6, 7, 29, 39, 40, 57), bei weniger ausgeprägtem bis fehlendem Absinken des Gehalts an Phospholipiden (3, 4). Die Veresterung des Cholesterins scheint nicht beeinflußt zu werden (3, 50, 51).

Die Beeinflussung der Aktivitäten weiterer Enzyme werden an verschiedenen Versuchsobjekten beschrieben:

Reduktionshemmung der Δ^7 -Doppelbindung im Sterinring der Cholesterinvorstufen in Rattenleber (22).

Hemmung der Steroid-3-OH-Dehydrogenase in der Nebenniere der Ratte (23).

Verminderte Fähigkeit der Dehydrogenierung gesättigter Fettsäuren bei Protozoon *Tetrahymena pyriformis* (68).

In höheren Dosen eine Hemmung der Metabolisierung von Arzneimitteln in Rattenleber durch Enzyme, die, wie ebenfalls für die Seitenkettenreduktase vermutet (2), mit den Microsomen vergesellschaftet sind (35). Rust (83) beobachtete am gleichen Versuchsobjekt bei hoher Dosierung eine Hypertrophie der Leber und diskutiert eine direkte toxische Schädigung.

Über die Auswirkungen auf den energieliefernden Stoffwechsel liegen bisher wenige, dazu nur mit histochemisch semiquantitativer Methodik gewonnene Ergebnisse vor. Im Kleinhirn neugeborener Mäuse fanden sich (86) während der verzögert und verspätet einsetzenden Myelinbildung mit nur anfänglicher Anhäufung von Desmosterin Schwankungen der Aktivität von G-6-PDH (Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase: Eingangsenzym des Pentosephosphatcyclus) bei unauffälligem Verhalten der LDH (Lactat-Dehydrogenase: anärobe Glykolyse). Bei Abschluß der Myelinisierung war die Aktivität von

G-6-PDH wieder im Normbereich, die Gesamtlipide bei normalem Steringehalt erhöht.

Die Nebennierenrinde der Ratte (23) zeigte bei Lipidverarmung und Hypertrophie eine Aktivitätserhöhung der SUDH (Succinat-Dehydrogenase: Citratcyclus).

Die Ausscheidung von Desmosterin und anderen Cholesterinvorstufen über Galle und Darm erfolgt bei der Ratte schneller als die des Cholesterins (6).

Das Absinken des Gehalts an Cholesterin und Gesamtsterinen in der Nebenniere (5, 23, 41, 83) ist, wie bei Ratte und Mensch nachgewiesen wurde, mit einer Verminderung der Synthese und Ausschüttung der Steroidhormone verbunden (23, 41, 54) und führt zur reaktiven NNR-Hypertrophie (23, 54, 83). Cholesterin scheint demnach durch seine Vorstufen nicht gleichwertig ersetzt werden zu können (83).

Bei chronischer Anwendung, vor allem höherer Dosen, wurde bei der Ratte eine Verminderung der Gewichtszunahme bis Gewichtsverlust bei gleichzeitig reduzierter Nahrungsaufnahme festgestellt (23, 41, 83, 84). Jüngere (3, 4) und weibliche (45) Tiere zeigten sich besonders empfindlich.

Die Erwartung gleicher Wirkungen von Triparanol auf den Organismus des Meerschweinchens und dessen Epidermis scheint bei der weitgehenden Übereinstimmung der metabolischen Organisation in der Reihe der Säugtiere gerechtfertigt. Die Hemmung der Seitenkettenreduktion mit der Anhäufung entsprechender Cholesterinvorläufer wurde beim Meerschweinchen am Darm (30) und für das Hautorgan bei der Ratte (20, 42) gesichert.

1.5.2. Wirkungen am Hautorgan

Schon nach vierwöchiger Anwendung (1, 15, 100) sind morphologisch faßbare Veränderungen am menschlichen Hautorgan beschrieben, später in einigen Fällen von Linsentrübungen begleitet (46, 49, 62, 84, 100).

Klinisch sind die Erscheinungen an der Haut durch die Trias Ichtyosis, Haarpigmentverlust und Alopecie gekennzeichnet, deren gemeinsames Auf-

treten jedoch nur bei Männern beschrieben wird (1, 15, 62, 100). Das Bild der Ichthyosis geht mit Schuppung, Trockenheit, Sprödigkeit, Verminderung der Schweiß- und Talgsekretion an der ganzen Körperoberfläche und gelegentlicher symmetrischer Hyperpigmentierung schuppender Bezirke einher. Der Pigmentverlust der Haare ist am unmittelbaren Übergang des zuvor pigmentierten Haares in eine aschblonde Zone zu erkennen. Die Alopecie ist diffus und generalisiert, oder oft nur auf das Kopfhaar beschränkt und hin und wieder andere Regionen wie Achsel- und Schambehaarung mit einbeziehend (1).

Sämtliche Erscheinungen am Hautorgan sind reversibel (1, 15, 100) und treten einzeln und in verschiedenen Kombinationen wechselnder Stärke auf.

Das histologische Bild der Epidermis ist nach Beschreibung verschiedener Autoren beim Menschen (1, 15, 100) mit der Annahme einer Retentionshyperkeratose vereinbar. Die Zellregeneration scheint unverändert. Regelmäßig wird eine dicke, fest haftende Hornschicht, bei Fehlen oder Verminderung des Stratum granulosum gefunden. Die übrige Histologie, auch die der Hautanhangsgebilde, scheint unauffällig (1, 100).

Im Tierversuch an der Ratte war die gleiche Hautsymptomatik (42, 83, 84), ebenso wie der in einigen Fällen danach auftretende Katarakt der Linsen experimentell reproduzierbar. Die Linsentrübungen wurden durch subkapsuläre Schwellungen der Faserzellkörper in der Linsenkortex mit intra- und extrazellulärer Ablagerung von Cholesterinderivaten und Phospholipiden hervorgerufen (84).

Die Erscheinungen an der Haut, die sich auf die Störung der Bildung verhornter Substanzen beziehen, können daher mit einiger Berechtigung in Anbetracht der nachgewiesenen Interferenz von Triparanol im Fettstoffwechsel und der gesicherten gesetzmäßigen Beteiligung der Lipide an der Bildung verhornter Strukturen in Beziehung zum Fettstoffwechsel gesehen werden (1, 81).

Das oben beschriebene Auffinden von Lipiden in pathologischer Anordnung in der Linse unterstützt die Annahme einer Lipidstoffwechselstörung. Auf die gleiche entwicklungsgeschichtliche Abstammung von Haut und Linse aus dem Ektoderm sei in diesem Zusammenhang hingewiesen.

Auch für die Pigmentstörungen (Hyperpigmentation in schuppenden Bereichen und Pigmentverlust im Haar) ist nach Winkelmann und Mitarb. (100) eine Beteiligung des Lipidstoffwechsels zu diskutieren.

Gleiches gilt für die hereditäre Ichtyosis vulgaris (Übersicht: 33), deren klinische und histologische Ähnlichkeit mit den ichtyosiformen Hautveränderungen unter Triparanol an Störungen in verwandten Abschnitten des Zellmetabolismus denken läßt. Beiden gemeinsame Merkmale wie Sprödigkeit, Trockenheit und Schuppung der Haut mit Hyperpigmentierung wechselnden Ausmaßes, Retentionshyperkeratose mit fehlendem oder verschmälertem Stratum granulosum bei normaler Zellreduplikation, dazu in einigen Fällen das Auftreten von Linsenkatarakt, sind unverkennbar. Swanbeck (93) konnte bei Patienten mit Ichtyosis vulgaris im epidermalen Keratin das Vorliegen von Cholesterin und Phospholipiden in anomaler kristalliner Anordnung mit unvollständiger Aggregation der Tonofibrillen zur Keratinfaser nachweisen und zieht eine Veränderung der molekularen Konfiguration und Zusammensetzung sowohl der Lipide als auch der Proteine mit erschwelter Anordnung beider zu Proteolipiden und folglich unvollständiger Bildung von Keratin als allgemeines Prinzip schuppender Dermatosen (94, 95) in Betracht.

Trotz mannigfaltiger morphologischer Übereinstimmungen konnte jedoch eine ähnliche Hemmung der Cholesterinbiosynthese wie unter Triparanol-Applikation bei Ichtyosis vulgaris bisher nicht nachgewiesen werden (21).

1.6. Zellstoffwechsel

1.6.1. Allgemeine Organisation und Enzymbiochemie

(64, 66, 67, Übersichten: 63, 65)

Wie morphologische Strukturen eine Ordnung nach genormten Konstruktionsprinzipien erkennen lassen, findet sich auch im Bereich des mit biochemischer Methodik faßbaren Zellstoffwechsels in den zellulären Einheiten aller Organismen ein einheitlicher Organisationsplan. Es findet sich ein im Qualitativen überall identisches Stoffwechselschema, ein nach genormtem Plan festgelegtes Netzwerk von Reaktionsabläufen. Unterschiede der Gewebe, morphologisch am Strukturellen erkennbar, manifestieren sich im Stoffwechsel im Quantitativen unter Beibehaltung der Ordnung im Qualitativen: einzelne Stoffwechselabschnitte erfahren unter Beibehaltung des Konstruktionsprinzips des gesamten Gefüges eine unterschiedliche Betonung. Da nahezu sämtliche Reaktionsfolgen durch enzymatische Katalyse reguliert werden, liefert uns Erforschung und Vergleich des Enzymgehalts der Gewebe wesentliche Erkenntnisse über diese Ausprägung einzelner Stoffwechselwege und deren funktionelle Bedeutung, denn Enzyme liegen nicht im Überschuß, sondern in dem Bedarf angepaßten Größen vor (76). Die vorhandenen Enzymkonzentrationen bedingen die Rate der Umsetzungen. Die Enzymkapazität hängt von der Menge des zur Verfügung stehenden Enzymproteins ab, aus ihr läßt sich auf den durchschnittlichen Substratfluß in der durch das jeweilige Enzym katalysierten Reaktionsfolge schließen. Die Synthese des Enzymproteins ist genetisch durch das Erbsubstrat, die DNS, determiniert (Übersicht: 38). Die Veränderung der Syntheserate, damit auch die Menge vorhandenen Enzymproteins, z.B. durch Hormone (96, 98) gehört zum langfristig wirkenden Prinzip der Stoffwechselsteuerung, mit welchem eine Anpassung der Enzymkapazitäten an den chronischen, groben Bedarf des Stoffwechsels vollzogen wird. Demgegenüber wird zur kurzfristigen Feinregulation der Reaktionsabläufe entsprechend den akuten Erfordernissen des zellulären Stoffwechsels die Aktivität des vorhandenen Enzymproteins verändert. Diese Sofortregulierung erfolgt mittels Effektoren (Aktivatoren, Inhibitoren), sowie

durch Veränderung der Konzentration der Reaktionspartner. Diese, dem wechselndem kurzfristigem Bedarf angepaßte enzymatische Tätigkeit wird als Enzymaktivität im engeren Sinne bezeichnet.

Unsere Arbeit befaßt sich mit der Untersuchung der langfristigen durchschnittlichen Flußraten innerhalb der Stoffwechselsysteme, daher mit den Enzymkapazitäten. Im folgenden verwenden wir jedoch in Anlehnung an den zur Zeit in der Literatur allgemein üblichen Gebrauch den Begriff "Enzymaktivität" synonym zu "Enzymkapazität".

Die Bestimmung der enzymatischen Kapazitäten ergibt ein für jedes Gewebe charakteristisches Muster. Der Vergleich verschiedener Gewebe an Hand dieses Musters als Abbild der Ordnung ihrer metabolischen Organisation im Qualitativen und Quantitativen offenbart oft mehrere Dimensionen umfassende Varianzen ihrer Aktivitätsgehalte. Trotz unterschiedlicher Größe der Aktivitäten finden sich jedoch bestimmte Enzyme stets in zueinander konstanten Relationen. Diese proportionskonstanten Gruppen weisen sich somit als invariables, funktionsbedingtes Konstruktionselement aus. Proportionskonstanz kennzeichnet die Enzyme der Phospho-Triose-Glycerat-Gruppe, die in einem unverzweigtem Abschnitt der Glykolyse liegen, aber auch solche Gruppen, die Pentosephosphatcyclus, Citratcyclus, Atmungskette und Fettsäureoxydation zuzuordnen sind. Diese Reaktionsfolgen bilden somit überall verwirklichte, funktionell in sich geschlossene Systeme. Zur Beurteilung ihrer quantitativen Ausprägung genügt die Erfassung eines Leit- oder Bezugsenzyms innerhalb der Gruppe, die in Proportionskonstanz stehen.

Setzt man proportionskonstante Gruppen, oder methodisch einfacher, deren Leitenzyme als Repräsentanten ihrer Stoffwechselsysteme zueinander in Beziehung, so erhält man Aufschluß über die relative Ausprägung der Abschnitte in der individuellen zellulären Organisation.

In der Ermittlung dieser Systemkorrelationen, insbesondere der vergleichenden Betrachtung dieser zahlenmäßigen Größen innerhalb verschiedener Gewebe treten Verwandtschaften ebenso wie spezifische quantitative Ordnungszustände hervor und werden, ausgehend von Bekanntem, der Interpretation zugänglich.

Auf der Basis des Enzymaktivitätsmusters des normalen Gewebes kann

dann versucht werden, pathologische Veränderungen entsprechend zu analysieren und dem Verständnis näher zu bringen.

1.6.2. Energieliefernder Stoffwechsel der Meerschweinchen-epidermis

Im Bereich des energieliefernden Stoffwechsels ist die enzymatische Organisation der Epidermis des Meerschweinchens weitgehendst erforscht.

Die Bedeutung der Energiegewinnung für die Vorgänge der Verhornung wird ersichtlich aus dem Bedarf der Zellen an energiereich gebundenem Phosphat (meist ATP) zur Durchführung von Syntheseleistungen (in Verbindung mit der Reduplikation und Ausdifferenzierung) und einfach zur Gewährleistung des Erhaltungsstoffwechsels.

Glykolyse, Pentosephosphatcyclus, Fettsäureoxydation, Citratcyclus und Atmungskette sind die Reaktionsfolgen, in denen durch Substrat- und Atmungskettenphosphorylierung bei schrittweisem Abbau der Kohlenhydrate, Fette und Proteine Energie in Form von ATP gewonnen wird.

Kohlenhydrate werden, sofern sie nicht im Pentosephosphatcyclus direkt oxydiert werden, unter Benutzung des Hauptwegs der Glykolyse anärob zu Lactat abgebaut oder in Citratcyclus und Atmungskette der Endoxydation unterworfen. Lipide erreichen als C_3 -Einheiten (Dihydroxyacetonphosphat) die Glykolyse und nach Durchlaufen der Fettsäureoxydation als C_2 -Einheiten Citratcyclus und Atmungskette. Aminosäuren werden an mehreren Stellen in Glykolyse und Citratcyclus eingeschleust (Übersichten: 44, 71).

Der Ablauf des energieliefernden Stoffwechsels und seiner Verbindungsreaktionen zu anderen Abschnitten des Kohlenhydrat-, Lipid- und Aminosäurestoffwechsels nach allgemein gültigem Schema, wie in Abb. 2 Seite 16 dargestellt, wurde auch in der Epidermis des Meerschweinchens von Rassner bestätigt und vergleichend enzymologisch untersucht (70, 71, 72, 79). Die mit biochemisch quantitativer Methodik im Gesamthomogenat der normalen Meerschweinchenepidermis erhobenen Befunde dürfen nur auf lebende Zellschichten bezogen werden. In der Hornschicht der gesunden Haut

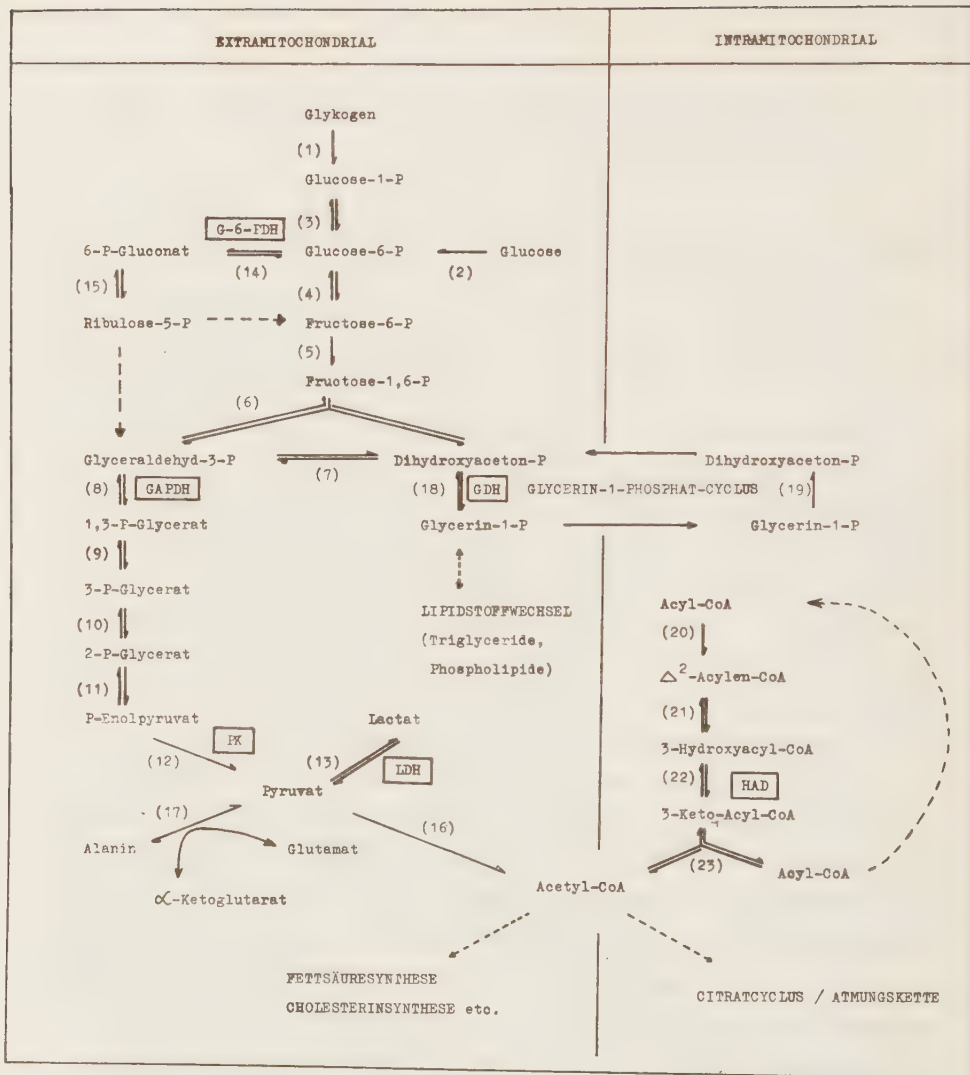


Abb. 2 : Glykolyse, Pentosephosphatcyclus und Fettsäureoxydation, sowie deren Verbindungsreaktionen in teilweise stark vereinfachter Darstellung (modifiziert nach 74 und 44). Die in dieser Arbeit untersuchten Enzyme sind mit ihren Abkürzungen (rechteckig eingerahmt) eingezeichnet.

(1) = Glykogenphosphorylase ; (2) = Hexokinase ; (3) = Phosphoglucumutase ; (4) = Hexoseisomerase ; (5) = Fructose-6-phosphat-Kinase ; (6) = Aldolase ; (7) = Trioseisomerase ; (8) = Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase ; (9) = Phosphoglycerat-Kinase ; (10) = Phosphoglyceromutase ; (11) = Enolase ; (12) = Pyruvat-Kinase ; (13) = Lactat-Dehydrogenase ; (14) = Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase ; (15) = 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase ; (16) = Pyruvatoxydase ; (17) = Glutamat-Pyruvat-Transaminase ; (18) = Glycerin-1-phosphat-Dehydrogenase ; (19) = Glycerin-1-phosphat-Oxydase ; (20) = Acyl-CoA-Dehydrogenase ; (21) = Enoyl-CoA-Hydratase (Crotonase) ; (22) = 3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase ; (23) = 3-Keto-Thiolase.

sind, wie histochemisch nachgewiesen, sämtliche Stoffwechselprozesse erloschen (9, 11).

Nach den Untersuchungen von Rassner (71, 72, 79) scheint sich die Epidermis zur Energiegewinnung in erster Linie des anärob glykolytischen Abbaus der Kohlenhydrate und der Fettsäureoxydation zu bedienen. Dies bestätigt die früheren Befunde von Freinkel (31), wonach sich 70% der isotonenmarkierten Glukose in Lactat, aber nur 2% im Citratcyclus wiederfanden. Indirekte Beweise für ein starkes Abfließen der Fettsäureoxydation wurden schon früher von verschiedenen Autoren erbracht (32, 101).

Die Glykolyse verläuft hauptsächlich anärob (71), in gleicher Höhe in allen lebenden epidermalen Zellschichten (11). Die Aktivitäten von GAPDH (Glyceraldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase : Leitenzym der Glykolyse in ihrem unverzweigtem Gesamtverlauf) und LDH (Repräsentant ihres anäroben Anteils) stehen zu den in Rattenleber im Verhältnis 1 : 6, d.h. sie liegen um den Faktor 6 niedriger (71).

Der Gehalt an Aktivitäten von SUDH und NAD-spezifischer IDH (Isocitrat-Dehydrogenase), beides Enzyme des Citratcyclus, liegt, wieder im Vergleich zur Leber, sowohl absolut als auch relativ auf GAPDH (Glykolyse) bezogen, wesentlich niedriger (81). Auf Grund der funktionsbedingten, stets konstant gefundenen Korrelation von Citratcyclus und Atmungskette (63, 66), ist für letztere Gleiches anzunehmen. Histochemisch konnte SUDH (Citratcyclus) (12) und Cytochrom a (Atmungskette) (8) vorwiegend in den basalen Zellschichten nachgewiesen werden, übereinstimmend mit dem Verteilungsmuster der Mitochondrien (11, 88, 102), an deren Strukturen beide Reaktionsketten gebunden sind. Citratcyclus und Atmungskette sind demnach noch um Größenordnungen geringer dimensioniert als die Glykolyse (72), ihr Ablauf ist zudem nur in den unteren Epidermis-Zellschichten, die durch Kontakt mit dem gefäßführenden Bindegewebe ausreichend mit O_2 versorgt werden (11), anzunehmen.

Stoffwechselwege, die mehr in Verbindung zu Syntheseleistungen zu sehen sind, sind demgegenüber relativ stärker vertreten (71). So der Pentosephosphatcyclus (71), der im Nebenschluß der Glykolyse sowohl Wasserstoff in Form des Koenzyms $NADPH_2$ für reduktive Biosynthesen (17, 47) im Rah-

men des Zellwachstums und der Ausdifferenzierung, als auch Pentosen zur Synthese von DNS für Zellreduplikationen liefert (Übersicht: 44). G-6-PDH, als Eingangsenzym histochemisch in der gesamten lebenden Epidermis darstellbar, ist, wie alle NADP-spezifischen Dehydrogenasen, mit einem Maximum der Aktivität in den oberen lebenden Zellschichten vertreten (Übersicht: 11). Dies erhellt die Bedeutung des Cyclus für die in diesen Zellagen ablaufenden Verhornungsprozesse, die mit der Synthese von Keratin, Cholesterin, Fettsäuren und Lipiden einhergehen. Die Relation (im Gesamthomogenat) GAPDH (Glykolyse) : G-6-PDH (Pentosephosphatcyclus), in der Leber 1 : 60, beträgt in der Epidermis 1 : 20 und verdeutlicht die relativ starke Ausprägung des Pentosephosphatcyclus gegenüber der Glykolyse (71). Die absoluten Gehalte an Aktivitäten von G-6-PDH in Leber und Epidermis sind dabei nahezu gleich. Ähnliches (71) gilt für PK (Pyruvat-Kinase), ein glykolytisches Enzym, das aus energetischen Gründen Umsetzungen fast nur in Richtung der Entstehung von Pyruvat katalysiert und mit seinem Substrat über GPT (Glutamat-Pyruvat-Transaminase) in Verbindung zum Aminosäurestoffwechsel steht. Die Aktivitäten beider Enzyme liegen wie jene der G-6-PDH ebenfalls in ähnlicher Höhe wie in Leber (Ratte) und weisen damit auf eine in Relation zur Gesamtglykolyse stärkere Ausprägung dieses Verbindungsweges zum Aminosäurestoffwechsel hin, dem auf Grund der Einseitigkeit des Verlaufs der PK-Katalyse vorwiegend synthetische Bedeutung zuzukommen scheint (71).

Die Fettsäureoxydation (Leitenzym HAD = 3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase) ist in der Epidermis verhältnismäßig hoch. Auffällig ist die Aktivitätsdifferenz der HAD zum nicht verhornenden Mundepithel. Bei annähernd gleicher Aktivität von GAPDH beträgt die Aktivität der epidermalen HAD etwa das 40-fache jener des nicht verhornenden Mundepithels. Dieser Befund wurde am menschlichen Untersuchungsobjekt erhoben (79), ist aber bei weitgehender Identität des epidermalen Zellstoffwechsels (74) auf die Epidermis des Meerschweinchens übertragbar. Rassner (79) diskutiert daher die Erfordernis der Fettsäureoxydation für die Verhornung, sei es zur Lieferung von Energie oder von Acetyl-CoA. Als sogenannte β -Oxydation von Enzymkomplexen im Inneren der Mitochondrien katalysiert (44, 69), ist die Korre-

lation der Fettsäureoxydation zu den ebenfalls hier vertretenen Systemen Citratcyclus/Atmungskette nicht konstant, sondern gewebsspezifisch (63). Unklar ist daher noch, ob bei verhornender Epidermis Acetyl-CoA aus der starken Fettsäureoxydation weiter zur Energiegewinnung oder zur Synthese von Cholesterin und Lipiden herangezogen wird (79).

Bei oxydativem Abbau der Glukose stellt der Glycerin-1-phosphat-Cyclus (16, 17, 47, 63, 65) das verbindende Glied im Substratfluß des glykolytisch entstehenden Wasserstoffs zur Atmungskette dar. Die Aufgabe des Cyclus besteht im Transport des bei glykolytischer Dehydrogenierung gewonnenen H_2 aus dem cytoplasmatischen Raum ins Mitochondrium, da die Mitochondrienmembran für die Koenzyme NAD und NADP undurchlässig ist. Extramitochondrial wird dazu Dihydroxyacetonphosphat durch GDH (Glycerin-1-phosphat-Dehydrogenase) zu Glycerin-1-phosphat reduziert, das in den intramitochondrialen Raum übertritt und dort von GP-Ox (Glycerin-1-phosphat-Oxydase), einem der Atmungskette verbundenem Enzym, wieder zu Dihydroxyacetonphosphat oxydiert wird. Dieses steht nach Rückkehr ins Cytoplasma erneut für den Kreislauf zur Verfügung.

Die epidermale Aktivität der GP-Ox ist sehr gering und kaum noch meßbar, die der GDH absolut und relativ zu jener von GAPDH erheblich niedriger als in Rattenleber (72). Die Aktivität von GDH in der Epidermis steht zu der in der Leber im Verhältnis 1 : 67 (im Vergleich dazu GAPDH und LDH jeweils 1 : 6).

Der Ablauf des Glycerin-1-phosphat-Cyclus scheint daher nur in geringstem Ausmaß realisiert, zudem in Anbetracht der Vergesellschaftung der GP-Ox mit der Atmungskette der Mitochondrien nur für basale Zellschichten zu erwägen. In diesem Sinn ist auch die hohe Aktivität der LDH (71) zu verstehen, die glykolytisch entstehende Reduktionsäquivalente ($NADH_2$) auf Pyruvat unter Lactatbildung überträgt. Auch in der Epidermis findet sich somit die Bestätigung der Inversion LDH - GDH (47, 63).

Eine weitere Bedeutung der GDH liegt in ihrer Funktion als Verbindungs-enzym der Glykolyse zum Fettstoffwechsel (69, 72). Dihydroxyacetonphosphat, durch GDH zu Glycerin-1-phosphat reduziert, dient der Synthese von Triglyceriden und Phospholipiden (74).

1.7. Definition und Abgrenzung der Arbeit

Bisherige Untersuchungen haben gezeigt, daß Triparanol zu einer Interferenz im Lipidstoffwechsel führt. Im Bereich der enzymatischen Organisation konnte neben einer Hemmung der Aktivität NADP-spezifischer Dehydrogenasen der Cholesterinsynthese auch eine Beeinflussung von G-6-PDH, einer ebenfalls NADP-spezifischen Dehydrogenase des energieliefernden Stoffwechsels, nachgewiesen werden. Histologisch wird eine Retentionshyperkeratose beschrieben, die Zellreduplikation scheint dabei unverändert.

Die vorliegende Arbeit macht es sich zur Aufgabe, bisher erforschte Bereiche des Zellstoffwechsels und die Histologie der Epidermis bei Triparanol induzierten Verhornungsstörungen am Meerschweinchen zu untersuchen. Unsere Untersuchungen sollen klären, ob neben der Störung des Lipidstoffwechsels Abschnitte des epidermalen Basisstoffwechsels, die, sei es durch Lieferung von Energie (ATP), Wasserstoff (NADPH_2), oder sonstigen Baustoffen (Acetyl-CoA, Glycerin-1-phosphat) an der Zellreifung und Bildung verhornten Materials, besonders des Lipidanteils, beteiligt sind, unter Triparanol Veränderungen erfahren. Unser Versuchsmodell soll beitragen, weiteren Einblick in den ursächlichen Zusammenhang von Stoffwechselgeschehen und Verhornungsanomalien zu gewinnen.

Die Arbeit stellt dabei eine Art Voruntersuchung dar, ob und mit welcher Methodik Aktivitätsveränderungen epidermaler Enzyme unter Triparanol-Behandlung zu verzeichnen sind. Verschiedene Modelle der Triparanolzufuhr werden dabei vergleichend nebeneinander gestellt, um das für weitere Untersuchungen geeignete Modell herauszufinden.

Wir dürfen erwarten, daß unter Triparanol am ehesten Stoffwechselsysteme beeinflußt werden, die in der postmitotischen Phase ablaufen und an den Vorgängen der Zellreifung, damit Verhornung, beteiligt sind. Hierzu rechnen Protein- und Lipidstoffwechsel, die sich durch spezifische Syntheseleistungen wie Bildung von Keratohyalin, Keratin, Cholesterin, Fettsäuren und Phospholipiden (11) in den sich ausdifferenzierenden postmitotischen Zellen auszeichnen und der Bereitstellung von Energie, somit der Energiegewinnung bedürfen.

Wir beschränken unsere Untersuchungen auf den energieliefernden Stoffwechsel unter besonderer Berücksichtigung seiner Verbindung zum Fettstoffwechsel und einer Anschlußstelle zum Aminosäurestoffwechsel.

Dem beschriebenen klinischen Bild (1, 15, 62,100) zufolge läßt Triparanol Wirkungen am gesamten Hautorgan, einschließlich Talgdrüsen, Haarfollikel und Schweißdrüsen erwarten. Wir berücksichtigen in dieser Arbeit jedoch nur die Vorgänge an der Epidermis ohne deren Anhangsgebilde, da jene wegen ihrer tieferen Lokalisation in der Cutis ohne gleichzeitiges Erfassen der Cutisanteile nicht zu gewinnen sind.

Folgende, jeweils bestimmte Reaktionsfolgen repräsentierende Enzyme wurden quantitativ-biochemisch im Gesamthomogenat der Epidermis normaler und Triparanol behandelter Meerschweinchen bestimmt, um aus ihren Aktivitäten auf die eventuelle Veränderung von Flußraten der entsprechenden Systeme zu schließen und die Größe der Korrelationen zu ermitteln:

GAPDH - Bezugsenzym der Glykolyse im unverzweigten Verlauf.

LDH - Bezugsenzym des anäroben Anteils der Glykolyse.

Die Bedeutung der Glykolyse, besonders in ihrem anäroben Verlauf, erhellt aus ihrem Nachweis als wesentlicher Energielieferant in allen lebenden Epidermisschichten.

PK - Glykolytisches Enzym, über sein Reaktionsprodukt, Pyruvat, direkt mit dem Aminosäure-, damit auch Proteinstoffwechsel, verbunden.

G-6-PDH - Eingangsenzym des Pentosephosphatcyclus. Der Pentosephosphatcyclus als Lieferant von NADPH_2 für reduktive Biosynthesen (Synthese von Cholesterin u.a.) ist, wie aus dem histochemisch nachgewiesenen Aktivitätsmaximum seines Bezugsenzym G-6-PDH in den oberen lebenden Epidermiszellschichten ersichtlich, in starkem Ausmaß an den Vorgängen der Zellreifung, damit der Verhornung, beteiligt. Die Bedeutung des Pentosephosphatcyclus für die Lipidsynthese wurde von Lowry und Mitarbeitern (19) betont, die im myelinreicher Substanz des Kaninchengehirns eine starke Ausprägung (hohe Aktivität von G-6-PDH bei relativ niedrigen Werten für HK = Hexokinase, ein die Glykolyse einleitendes Enzym) fanden. Ein direkter Zusammenhang zwischen den Aktivitäten NADP-spezifischer Dehydrogenasen und dem Gesamtlipidgehalt wird daher diskutiert (47). An das unter Tripara-

nol im Kleinhirn junger Mäuse während der Myelinbildung von der Norm abweichende Verhalten der G-6-PDH sei erinnert (86).

HAD - Bezugsenzym der Fettsäureoxydation

Die Bedeutung der Fettsäureoxydation für die Verhornung erklärt sich aus der relativ (auf GAPDH bezogen) 30-fach und absolut 40-fach höheren Aktivität der epidermalen HAD gegenüber jener des nicht verhornenden Mundepithels (79).

GDH - Verbindungsenzym von Glykolyse und Fettstoffwechsel

extramitochondriales Enzym des G-1-P-Cyclus. Aus der zentralen Stellung von Glykolyse und Fettstoffwechsel an den Vorgängen der Zellreifung resultiert die Bedeutung der GDH als verbindendes Glied beider Stoffwechselabschnitte. Da die Kapazität der Epidermis in Bezug auf den Glycerin-1-phosphat-Cyclus sehr gering zu sein scheint, zudem an das Vorhandensein von Mitochondrien gebunden, mehr basal zu lokalisieren ist, dürfen wir die Aktivität des Enzyms vornehmlich in Bezug zum Fettstoffwechsel bringen. Bei Psoriasis, einer schuppigen Verhornungsstörung mit Auftreten anomaler Lipidformationen ließ sich eine Aktivitätsverminderung der GDH bei Steigerung des energieliefernden Stoffwechsels nachweisen (73, 74, 75). Das hier gleichzeitig beobachtete gegensinnige Verhalten der GP-Ox (Steigerung der Aktivität) rechtfertigen, das Verhalten der GDH mit dem Lipidmetabolismus in Zusammenhang zu bringen. Ein Bezug auf den G-1-P-Cyclus würde eine Parallelität der Aktivitäten von GDH und GP-Ox voraussetzen (16).

Durch gemeinsames Erfassen der Aktivitäten von GAPDH, LDH und GDH in unserer Versuchsanordnung läßt sich objektivieren, inwieweit eine Änderung der Aktivität von GDH in Beziehung zum Fettstoffwechsel oder zum G-1-P-Cyclus zu bringen ist.

2. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

2.1. Material und Methodik

Wahl und Aufzucht der Versuchstiere, Gewinnung des Hautmaterials, Herstellung des Epidermisextrakts, Ansatz der Testlösungen und Bestimmung der enzymatischen Aktivitäten erfolgten nach von Rassner (70, 72, 79) beschriebener, standardisierter Methodik.

2.1.1. Tiermaterial

Reinrassige männliche Meerschweinchen (Stamm Pirbright-White), Lebendgewicht 200-400 gr am Tage der Hautgewinnung, wurden in Dreier- und Fünfergruppen bei 18-20°C gehalten und mit Wasser und Altromin MS, je nach Versuchsgruppe Pellets oder gemahlen, ad libitum ernährt.

2.1.2. Triparanol-Anwendung

Triparanol wurde sowohl oral als auch parenteral in einer Dosis von 5mg/die über 10 und 17 Tage zur Anwendung gebracht. Bei parenteraler Applikation wurde 5mg in 0,5 ml Olivenöl gelöst, subcutan in die linke Flanke injiziert, die Tiere erhielten Altromin MS Pellets. Bei oraler Gabe wurde vorher der tägliche Futterbedarf ermittelt und Triparanol, 5 mg/die zusätzlich eines Aufschlags von 15%, um Verluste durch Verschleppen auszugleichen, mit der jeweils erforderlichen Menge gemahlenen Altromins vermischt.

2.1.3. Gewinnung des Extrakts

Die Tiere wurden durch Genickschlag und Entbluten getötet, und nach mechanischer Epilation ein etwa 4 x 5cm großes rechteckiges Hautstück aus der rechten Flanke in der subcutanen Fettschicht herausgelöst. Ein kleines Stück des Materials wurde zur Anfertigung eines histologischen Präparates (Fixierung in Formalin und Färbung mit Hämatoxylin-Eosin) abgetrennt.

Die Trennung der Epidermis vom Corium erfolgte nach van Scott (85). Das Hautstück wurde in einem Spanngerät mit zwei Klemmen fixiert und unter stetem Nachspannen zuerst die Cutis abgetrennt, dann die verbliebenen Haare vollständig mit Pinzette mechanisch epiliert und das Hautfett mit Fil-

terpapier abgestreift. Die Epidermis wurde unter starkem Spannen des Präparates in der Mitte angeritzt und bei senkrechter Haltung der Klinge schabend zur Seite hin abgetragen. Nach Einbringen in ein Ultraturraxröhrchen wurde sie ausgewogen, dann im Verhältnis 1 : 20 mit Phosphatpuffer ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ 100mMol, EDTA 2 mMol, pH 7,3) versetzt, in einer Eis-Viehsalz-Kältemischung vorgekühlt und im Messerhomogenisator (Ultraturrax, Fa. Janke und Kunkel Freiburg/Brsg.) bei voller Tourenzahl 3 x 30 sec mit jeweils 1 min Kühlpausen homogenisiert. Nach 20 min Rühren im Eisbad mit Magnetrührer wurde das Homogenat 15 min bei 100 000g (35 000 U/min) zentrifugiert (präparative Ultrazentrifuge, Fa. Beckmann), das Sediment verworfen und der Überstand zur Bestimmung der Enzymaktivitäten im Eisbad aufbewahrt.

Im derart gewonnenen Überstand finden sich neben den cytoplasmatischen Enzymen (GAPDH, LDH, PK, G-6-PDH, GDH) die mitochondriale gelöste HAD, da der Aufschluß im Messerhomogenisator im Zusammenwirken mit dem hypertonen Phosphatpuffer auch zur Disintegration der Zellorganellen, damit auch der Mitochondrien, führt (70).

2.1.4. Bestimmung der Enzymaktivitäten

Die Messung enzymatischer Aktivitäten wurde im optischen Test nach Warburg am Photometer Eppendorf (mit automatischer Registrierung) durch Änderung der Lichtabsorption der Pyridinnucleotide NADH_2 und NADPH_2 pro Zeiteinheit bei 366 m μ (Schichtdicke der Testlösung 1 cm) durchgeführt.

Die Einzelvorschriften zum Ansatz der Testlösungen wurden von Rassner (70, 72, 79) in Anlehnung an die von Bücher, Luh und Pette (18) beschriebene Methodik zur Bestimmung der Dehydrogenasen im optischen Test entwickelt. Sie sind den Erfordernissen der Meerschweinchenhaut angepaßt und in Bezug auf den Zusatz von Substraten, Hilfsenzymen und anderen Reaktionspartnern für jedes Enzym optimal gestaltet. Die in vitro gemessenen Aktivitäten ergeben somit maximale Werte für die Epidermis des Meerschweinchens, bei festgelegter Temperatur des Messvorgangs von 25°C und einheitlichem pH von 7,6 (HAD jedoch pH 6,0). In den unten folgenden Testvorschriften ist die Molarität der im Ansatz enthaltenen Substanzen angegeben.

Im Gesamtvolumen, 1 ml, ist der Zusatz von 0,05 ml Extrakt enthalten. Die Konzentration der verwendeten Substrate (BTS, G-6-P, PEP, 3-PGS) wurde enzymatisch ausgetestet, die Toleranzgrenzen lagen bei $\pm 10\%$.

Die zugesetzten Substanzen (Substrate, Puffer, Elektrolyte) wurden von den Firmen C.F. Boehringer G.m.b.H. Mannheim; Fluka AG, Buchs SG. (Schweiz); Merck AG Darmstadt; Serva Heidelberg; und Schuchardt München bezogen, Hilfsenzyme und Koenzyme von C.F. Boehringer G.m.b.H. Mannheim.

Acetoacetyl-CoA war 14-tägig frisch zuzubereiten. Das Verfahren wird von Rassner (79) beschrieben: 10 mg CoA und 20 mg KBH_4 (Kalium-tetrahydroborat) werden in 2 ml KOH (2 mMol) und 0,5 ml Tris-Puffer (200 mMol, pH 9,0) gelöst, 15 min bei 37°C inkubiert, anschließend im Eisbad auf pH 7,2 neutralisiert und geschüttelt, bis aller Wasserstoff entwichen ist. 0,05 ml frisch destilliertes Diketen wird zugegeben und die Lösung auf pH 7,0 eingestellt, anschließend gut durchmischt, 20 min im Eisbad aufbewahrt, auf pH 5,0 titriert und mit gleichem Volumen Äther 3 x je 5 min durchgeschüttelt. Die erhaltene Lösung enthält ca. 3 mMol CoA. Sie wurde enzymatisch mit HAD ausgetestet.

Der Start der Reaktion zur Bestimmung der Dehydrogenasen wurde entweder durch Zusatz von Substrat oder Extrakt eingeleitet und gestattet die Berücksichtigung eines Vorlaufes, der im ersten Fall durch extraktbedingte Faktoren, im zweiten Fall durch eventuelle Verunreinigungen der Substratlösungen hervorgerufen wird und vom Reaktionsverlauf in Abzug gebracht wurde.

Testlösungen:

GAPDH: TRA 50 mMol, EDTA 5 mMol, MgSO_4 4 mMol,
 NADH_2 0,28 mMol, GSH 2,4 mMol, ATP 2 mMol,
3-PGS 15 mMol, PGK 3,6 U.
pH 7,6, Start mit Extrakt 0,05 ml

PK: TRA 50 mMol, EDTA 5 mMol, MgSO_4 8 mMol,
KCl 75 mMol, NADH_2 0,28 mMol, ADP 2 mMol,
PEP 2,5 mMol, LDH 1,8 U.
pH 7,6, Start mit Extrakt 0,05 ml

LDH: TRA 50 mMol, EDTA 5 mMol, NADH_2 0,28 mMol,
BTS 4 mMol,
pH 7,6, Start mit Extrakt 0,05 ml

G-6-PDH: TRA 50 mMol, EDTA 5 mMol, NADP 0,3 mMol,
G-6-P 2 mMol,
pH 7,6 Start mit Extrakt 0,05 ml

GDH: TRA 50 mMol, EDTA 5 mMol, NADH_2 0,28 mMol,
DAP 0,4 mMol,
pH 7,6, Start mit Extrakt 0,05 ml

HAD: Natriumcacodylatpuffer 50 mMol,
 NADH_2 0,28 mMol, Acetoacetyl-CoA 0,15 mMol,
Extrakt 0,05 ml,
pH 6,0, Start mit Acetoacetyl-CoA

Die getesteten Enzyme werden durch die Dezimalklassifizierung
(nach 24) eindeutig gekennzeichnet:

GAPDH: Glyceraldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase
(E.C. 1.2.1.12)

LDH: Lactat-Dehydrogenase (E.C. 1.1.1.27)

PK: Pyruvat-Kinase (E.C. 2.7.1.40)

G-6-PDH: Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase
(E.C. 1.1.1.49)

GDH: Glycerin-1-phosphat-Dehydrogenase (E.C. 1.1.1.8)

HAD: 3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase (E.C. 1.1.1.35)

Die gemessenen Aktivitäten werden in $\text{mU} = 0,001 \text{ U}$ angegeben und auf
Gramm Frischgewicht bezogen.

$\text{U (Internationale Enzymeinheit)} = \mu\text{Mol Substratumsatz/min/gr Frisch-}$
 $\text{gewicht Epidermis bei } 25^\circ\text{C}.$

2.1.5. Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte nach Mittenecker (56). Eine Normalverteilung der Messwerte wurde vorausgesetzt. Die Standardabweichung wurde nach folgender Formel berechnet:

$$s = \sqrt{\frac{\sum (X - M)^2}{N - 1}}$$

s = Standardabweichung, X = Einzelwert, M = Mittelwert, N = Zahl der Untersuchungen.

In allen zu vergleichenden Tierkollektiven wurde die Homogenität der Varianz durch Ermittlung des F-Wertes überprüft und bestätigt. Zur Berechnung der Signifikanz wurde nach dem t-Test verfahren. Als signifikant gelten Feststellungen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $\leq 1\%$.

2.1.6. Abkürzungen

ADP	-	Adenosindiphosphat
ATP	-	Adenosintriphosphat
CoA	-	Coenzym A
DAP	-	Dihydroxyacetonphosphat
EDTA	-	Äthylendiamintetraacetat (= Titriplex III)
GAPDH	-	Glyceraldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase
GDH	-	Glycerin-1-phosphat-Dehydrogenase
GP-Ox	-	Glycerin-1-phosphat-Oxydase
GPT	-	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
GSH	-	reduziertes Glutathion
G-1-P	-	Glycerin-1-phosphat
G-1-P-Cyclus	-	Glycerin-1-phosphat-Cyclus
G-6-P	-	Glukose-6-phosphat
G-6-PDH	-	Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase
HAD	-	3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase
HK	-	Hexokinase
IDH-NAD spezifisch	-	NAD-spezifische Isocitrat-Dehydrogenase

LDH	- Lactat-Dehydrogenase
NAD(H ₂)	- Nicotinamid-adenin-dinucleotid (reduziert)
NADP(H ₂)	- Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (reduziert)
PEP	- Phosphoenolpyruvat
PGK	- Phosphoglycerat-Kinase
3-PGS	- D-Glyceraldehyd-3-phosphat
PK	- Pyruvat-Kinase
SUDH	- Succinat-Dehydrogenase
TRA	- Triäthanolamin-hydrochlorid (Puffersubstanz)
TRIS	- Tris(Hydroxymethyl)-Aminomethan (Puffersubstanz)

2.2. Versuchsplanung und Darstellung der Ergebnisse

Die Untersuchungen wurden in 3 Versuchsreihen zu verschiedenen Jahreszeiten an insgesamt 47 Versuchstieren durchgeführt.

In den einzelnen Versuchsreihen kam Triparanol in verschiedener Form (oral und parenteral) über verschiedene Zeit (10 und 17 Tage = Dauer der Versuchsperiode) zur Anwendung. Die Versuchstiere wurden in "Triparanolgruppen" zusammengefaßt, zu denen parallel jeweils den gleichen Versuchsbedingungen und der gleichen Behandlung unterworfen, entsprechende Kontrollgruppen - ohne Verabreichung von Triparanol - gehalten wurden.

Je nach Behandlung in der Versuchsperiode wurden die Tiere in insgesamt 6 verschiedene Kollektive eingeteilt (3 Triparanol- und 3 Kontrollgruppen), im folgenden mit römischen Ziffern gekennzeichnet:

<u>Kontrollgruppe I:</u>	Normalfutter (Altromin MS - Pellets)
<u>Kontrollgruppe II:</u>	Normalfutter, dazu 10 Tage 0,5 ml Olivenöl s.c. tägl.
<u>Kontrollgruppe III:</u>	Pulverfutter (Altromin MS - gemahlen)
<u>Triparanolgruppe IV:</u>	Normalfutter, dazu 10 Tage 5 mg Trip. in 0,5 ml Olivenöl s.c. tägl.
<u>Triparanolgruppe V:</u>	wie IV, Trip. über 17 Tage
<u>Triparanolgruppe VI:</u>	Pulverfutter 17 Tage mit Zusatz von 5 mg Trip. tägl.

Die Bewertung der Ergebnisse erfolgt gruppenweise. Die einander entsprechenden Kollektive der Triparanol- und Kontrollserie werden gegenübergestellt und bezüglich Entwicklung und Wachstum, sowie Histologie und Enzymaktivitätsgehalt der Epidermis vergleichend betrachtet.

Versuchsreihe A:

21 Tiere, Hautgewinnung im April/Mai. Gewicht der Tiere: 250 - 380 gr.
Triparanol-Anwendung parenteral über 10 und 17 Tage, oral über 17 Tage.
Triparanol-Gruppen: IV, V, VI
Kontroll-Gruppen: I, II

Versuchsreihe B:

13 Tiere, Hautgewinnung im Juli. Gewicht der Tiere: 210 - 290 gr.

Triparanol Anwendung parenteral und oral über 17 Tage.

Triparanol-Gruppen: V, VI

Kontroll-Gruppen: II, III

Versuchsreihe C:

13 Tiere, Hautgewinnung im Oktober. Gewicht der Tiere: 200 - 400 gr.

Triparanol-Anwendung oral über 17 Tage.

Triparanol-Gruppe: VI

Kontroll-Gruppen: III, I

Die Ergebnisse der Enzymaktivitätsuntersuchungen sind graphisch und tabellarisch dargestellt.

Abb. 3 Seite 31 gibt eine Übersicht über die durchschnittlichen Enzymaktivitätsgehalte der Tierkollektive aller 3 Versuchsreihen. Die Mittelwerte der Gruppen sind in logarithmischem Maßstab aufgetragen. Die Streuung der Einzelwerte sind hierbei nicht berücksichtigt.

In den Tabellen 1-3 sind die Kollektive jeweils einer Versuchsreihe erfaßt. Aus dem Verhältnis von Mittelwert der Gruppe und dazugehöriger Standardabweichung wird die Streubreite der Einzelmessungen ersichtlich. Beim Vergleich der Mittelwerte sind die Unterschiede zwischen den Gruppen in Prozent ausgedrückt, und fehlende oder vorhandene Signifikanz des Unterschiedes festgestellt.

Erläuterung der Tabellen 1 - 4 (Seite 32-35):

M = Mittelwert; N = Zahl der Untersuchungen; s = Standardabweichung;

Sig = Signifikanz; + (bei Signifikanz) = Unterschied signifikant, Irrtumswahrscheinlichkeit $\leq 1\%$; - (bei Signifikanz) = Unterschied nicht signifikant,

Irrtumswahrscheinlichkeit $> 1\%$; % = Unterschied der Mittelwerte in Prozent.

		ENZYMAKTIVITÄTEN							VERGLEICH DER AKTIVITÄTEN				
TIERGRUPPE		II	I	II+I	IV	V	VI	V+VI	I/II	II/IV		II+I/V+VI	
		N = 2	N = 3	N = 5	N = 5	N = 5	N = 6	N = 11	%	Sig	%	Sig	%
GAPDH	M	36450	30030	32600	39800	37300	37200	37250	+ 20	-	+ 9	-	+ 14
	S	3540	2560	4330	2960	4650	2440	3410					-
LDH	M	62900	59800	61000	80100	66170	58500	62000	+ 5	-	+ 27	-	+ 2
	S	5660	6560	5680	9000	7720	4160	6930					-
PK	M	16650	28000	23500	27450	22980	20900	21900	- 40	-	+ 65	-	- 7
	S	2650	5460	7450	6320	7100	2920	5080					-
G-6-PDH	M	2070	1610	1792	1965	2290	2260	2270	+ 29	-	- 5	-	+ 26
	S	566	102	386	282	857	392	499					-
GDH	M	244	235	239	305	279	266	272	+ 4	-	+ 25	-	+ 14
	S	79	28	45	86	88	55	68					-
HAD	M	3270	3270	3270	3190	5040	4890	4965	+ 0	-	- 2	-	+ 52
	S	438	317	314	1210	1585	856	1206					+

Tabelle 1 : Versuchsreihe A Durchschnittliche epidermale Enzymaktivitätsgehalte innerhalb der Tiergruppen (Mittelwerte der Aktivitäten) und Streuung der Einzelaktivitäten (Standard = Abweichung).

Vergleich der Tiergruppen bezüglich ihrer Aktivitätsgehalte.

		ENZYMAKTIVITÄTEN					VERGLEICH DER AKTIVITÄTEN				
TIERGRUPPE		II	III	II+III	V+VI	III/II		II+III/V+VI			
		N = 2	N = 5	N = 7	N = 3	%	Sig	%	Sig		
GAPDH	M	30750	28500	29100	29400	+ 8	-	+ 1	-		
	s	1770	5310	4980	6060						
LDH	M	68600	75300	72000	75200	- 9	-	+ 4	-		
	s	3680	9680	8850	7640						
PK	M	19650	25600	23900	28200	- 23	+	+ 18	-		
	s	495	1935	2930	7570						
G-6-PDH	M	3140	2980	3010	3160	+ 5	-	+ 5	-		
	s	480	284	400	216						
GDH	M	459	340	373	443	+ 35	-	+ 19	-		
	s	62	79	91	164						
HAD	M	6735	5370	5750	6670	+ 25	-	+ 16	-		
	s	475	945	1035	1150						

Tabelle 2 : Versuchsreihe B Durchschnittliche epidermale Enzymaktivitätsgehalte innerhalb der Tiergruppen (Mittelwerte der Aktivitäten) und Streubreite der Einzelaktivitäten (Standardabweichung).

Vergleich der Tiergruppen bezüglich ihrer Aktivitätsgehalte.

Aktivitätseinheit : mU ($U = \mu\text{Mol Substratumsatz/min}$) / Gr.Frischgewicht.

TIERGRUPPE		ENZYMAKTIVITÄTEN				VERGLEICH DER AKTIVITÄTEN					
		I		III		VI		I/III		III/VI	
		N = 3		N = 5		N = 5		%	Sig	%	Sig
GAPDH	M	41650		37400		33600		- 10	-	- 10	-
	S	3390		2500		4080					
LDH	M	60500		56400		55000		- 7	-	- 2	-
	S	7680		4450		6580					
PK	M	32150		28400		21150		- 11	-	- 26	-
	S	4570		10720		5290					
G-6-PDH	M	2820		2640		2655		- 6	-	+ 0,5	-
	S	198		530		417					
GDH	M	314		308		454		- 2	-	+ 47,5	-
	S	54		78		146					
HAD	M	7950		6020		7390		- 24	-	+ 23	-
	S	996		700		1007					

Tabelle 3 : Versuchsreihe C Durchschnittliche Epidermale Enzymaktivitätsgehalte innerhalb der Tiergruppen (Mittelwerte der Aktivitäten) und Streubreite der Einzelaktivitäten (Standardabweichung).

Vergleich der Tiergruppen bezüglich ihrer Aktivitätsgehalte.

KONTROLLGRUPPE		I				II				III			
VERSUCHSREIHE		A	C	A/C		A	B	A/B		B	C	B/C	
		N = 3	N = 3	%	Sig	N = 2	N = 2	%	Sig	N = 5	N = 5	%	Sig
GAPDH	M	30030	41650	+ 38	+	36450	30750	- 16	-	28500	37400	+ 31	+
	S	2560	3390			3540	1770			5310	2500		
LDH	M	59800	60500	+ 1	-	62900	68600	+ 9	-	75300	56400	- 25	+
	S	6560	7680			5660	3680			9680	4450		
PK	M	28000	32150	+ 15	-	16650	19650	+ 18	-	25600	28400	+ 11	-
	S	5460	4570			2650	495			1935	10720		
G-6-PDH	M	1610	2820	+ 75	+	2070	3140	+ 52	-	2980	2640	- 11	-
	S	102	198			566	480			284	530		
GDH	M	235	314	+ 33	-	244	459	+ 88	-	340	308	- 9	-
	S	28	54			79	62			79	78		
HAD	M	3270	7950	+143	+	3270	6735	+ 106	-	5370	6020	+ 12	-
	S	317	996			438	475			945	700		

Tabelle 4 : Kontrollgruppen verschiedener Versuchsreihen.

Vergleichende Betrachtung der epidermalen Aktivitätsgehalte von Kontrollgruppen, die in Bezug auf Versuchsbedingungen identisch sind, aber verschiedenen Versuchsreihen angehören. Aktivitätseinheit : mU ($U = \mu\text{Mol Substratumsatz/min}$) / gr. Frischgewicht.

2.3. Ergebnisse

Vergleich der Kontrollkollektive aller Versuchsreihen:

Die vergleichende Betrachtung von Kontrollgruppen, die in Bezug auf Versuchsbedingungen identisch sind, aber verschiedenen Versuchsreihen angehören, zeigt bei jeweils normaler, unauffälliger Histologie der Epidermis zum Teil beträchtliche, hinsichtlich der Aktivitätsgehalte für einige Enzyme signifikante Unterschiede der Kollektive (Tabelle 4).

In der Gesamtheit liegen die Aktivitäten der Versuchsreihen B und C höher als jene der Versuchsreihe A.

Versuchsreihe A:

Triparanol Anwendung über 10 Tage:

parenteral: Triparanol-Gruppe IV - 5 Tiere

Triparanol Anwendung über 17 Tage:

parenteral: Triparanol-Gruppe V - 5 Tiere

oral: Triparanol-Gruppe VI - 6 Tiere

Entsprechende Kontroll-Kollektive:

parenteral: Kontroll-Gruppe II - 2 Tiere

oral: Kontroll-Gruppe I - 3 Tiere

1. Wachstum und Entwicklung:

Die tägliche Gewichtszunahme aller Tiere betrug vor Beginn der Versuchsperiode 7,5 - 11 gr. Bei einem Ausgangsgewicht von 200 - 260 gr war mit Beginn der in den Gruppen verschiedenen Fütterungs- und Injektionsbehandlung das Wachstum der Tiere jener Gruppen, die Triparanol oral (VI) erhielten, oder Injektionen mit (IV, V) oder ohne (II) Triparanol unterworfen wurden, deutlich verringert. Am Ende der Versuchsperiode (Tag der Hautgewinnung) lagen die Gewichte der Tiere bei 250 - 380 gr.

Tägliche Gewichtszunahme der Tiere:

II	- parenterale Kontrollgruppe:	5,0 - 5,5 gr
I	- orale Kontrollgruppe:	7,5 - 11,0 gr
IV	- Trip. 10 Tage parenteral:	3,0 - 6,0 gr
V	- Trip. 17 Tage parenteral:	3,0 - 4,6 gr
VI	- Trip. 17 Tage oral:	1,8 - 4,7 gr

Gesamtzahl der Tiere: 21; keine Verluste.

2 von 6 Tieren der Trip. Gruppe VI (Trip. 17 Tage oral) entwickelten zunehmend am ganzen Körper eine diffuse Alopecie.

2. Enzyme:

Ergebnisse der Messungen und Auswertung: Tabelle 1

Kontrolltiere:

Vergleich zwischen oraler (I) und parenteraler (II)

Kontrollgruppe: Tabelle 1 - I/II

In der parenteralen Kontrollgruppe liegen bei isoliertem stärkerem Abfall der PK um 40% die Aktivitäten der übrigen glykolytischen Enzyme (GAPDH und LDH), sowie von GDH und des Eingangsenzyms des Pentosephosphatcyclus (G-6-PDH) geringgradig bis mäßig höher. Die Aktivität des Bezugsenzyms der Fettsäureoxydation (HAD) ist mit jener der oralen Gruppe identisch. Die Unterschiede zwischen den beiden Kontrollgruppen sind nicht signifikant.

Triparanol 10 Tage parenteral (IV):

Vergleich zum entsprechenden Kontrollkollektiv (II):

Tabelle 1 - II/IV

In der Triparanolgruppe findet sich ein geringgradig (GAPDH: + 9%, LDH: + 27%) bis stärker (PK: + 65%) erhöhtes Aktivitätsniveau der Enzyme der Glykolyse und von GDH (+ 25%), während die Aktivitäten von G-6-PDH und HAD auf der Höhe der Werte der Kontrollgruppe liegen. Auffällig ist die im Triparanolkollektiv sehr starke Streuung der Einzelaktivitäten von HAD (hohe Standardabweichung).

Die Triparanolgruppe unterscheidet sich jedoch nicht signifikant von der Kontrollgruppe.

Triparanol 17 Tage parenteral und oral (V + VI):

Die Gruppen parenteraler und oraler Versuchsanordnung werden, da sie in Triparanol- (parenteral: V, oral: VI) und Kontrollserie (parenteral: II, oral: I) in annähernd gleichem Verhältnis zueinander stehen, zusammengefaßt und in der Gesamtheit beurteilt.

Vergleich der Triparanolkollektive (V + VI) zu den entsprechenden Kontrollgruppen (II + I):

Tabelle 1 - II+I/V+VI

Insgesamt liegen bei den Triparanol-behandelten Tieren die Aktivitäten der glykolytischen Enzyme (mit Ausnahme von PK: gering erniedrigt), sowie von G-6-PDH und GDH gering bis mäßig höher. Allein die um 52% stärkere Aktivität der HAD unterscheidet das Triparanolkollektiv signifikant von der Kontrollgruppe.

3. Histologie

Kontrollgruppen II und I: unauffällige, normale Epidermis

Triparanol 10 Tage parenteral (IV):

In 2 Fällen weist das histologische Bild keine Veränderungen auf, bei den restlichen 3 Tieren sind stellenweise leichte Hyperorthokeratosen, nur in einem Falle von einer geringgradigen Verbreiterung des Stratum granulosum begleitet, festzustellen.

Triparanol 17 Tage parenteral und oral (V + VI):

In allen Fällen sind gleichermaßen Hyperorthokeratosen, die in der Regel nur stellenweise auftreten, zu beobachten. Das Stratum granulosum ist teils durchgehend, teils auf die keratotischen Regionen beschränkt, in wechselnder Stärke verbreitert. In 2 Fällen finden sich Follikelkeratosen. In einem Fall ist eine ausgeprägte Hyperorthokeratose mit durchgehender Verbreiterung des Stratum granulosum von einer Abflachung der Retezapfen begleitet.

Versuchsreihe B:

Auf Grund der bei 10 tägiger Anwendung nur schwach ausgeprägten histologischen und enzymatischen Veränderungen gegenüber den Befunden bei 17 tägiger Verabreichung wurde in dieser Versuchsreihe nur die 17 tägige Versuchsanordnung berücksichtigt.

Triparanol Anwendung über 17 Tage:

parenteral: Triparanol-Gruppe V - 3 Tiere

oral: Triparanol-Gruppe VI - 2 Tiere

Entsprechende Kontroll-Kollektive:

parenteral: Kontroll-Gruppe II - 3 Tiere

oral: Kontroll-Gruppe III - 5 Tiere

1. Wachstum und Entwicklung

Die Tiere dieser Versuchsreihe waren jünger als die der Versuchsreihe A. Die Ausgangswerte ihrer Gewichte betrugen zu Beginn der Versuchsperiode 140 - 190 gr, bei Gewinnung des Materials 210 - 290 gr. Während die Entwicklung der Tiere, die Triparanol oral erhielten (VI), sich wie die der entsprechenden Kontrollgruppe (III) unauffällig zeigte, war das Gedeihen der Tiergruppen, die einer Injektionsbehandlung mit (V) und auch ohne (II) Triparanol unterworfen waren, deutlich schlechter.

II - parenterale Kontroll-Gruppe:

2 Tiere: tägl. Gew.Zunahme 1,0 u. 3,0 gr

1 Tier: zunehmender Gew.Verlust und Tod

III - orale Kontroll-Gruppe:

normale Entwicklung, tägl. Gew.Zunahme 5,2 - 6,7 gr

V - Triparanol 17 Tage parenteral:

1 Tier: normale Entwicklung

2 Tiere: zunehmender Gew.Verlust und Tod

VI - Triparanol 17 Tage oral:

normale Entwicklung, tägl. Gew.Zunahme 5,0 u. 5,5 gr

2. Enzyme:

Ergebnisse der Messungen und Auswertung: Tabelle 2

Kontrolltiere:

Vergleich zwischen oraler (III) und parenteraler (II)

Kontrollgruppe: Tabelle 2 - III/II

In der parenteralen Gruppe ist die Aktivität der PK um 23% signifikant geringer. Dagegen liegen (mit Ausnahme von LDH: leicht erniedrigt) die Aktivitäten der übrigen Enzyme, nicht signifikant, gering bis mäßig höher.

Triparanol 17 Tage parenteral und oral (V + VI):

Auf Grund der Verluste bei den Tieren der parenteralen Versuchsanordnung werden, wie in Versuchsreihe A, sowohl die Tiere der Gruppen parenteraler (V) und oraler (VI) Triparanol-Zufuhr, als auch ihre entsprechenden Kontrollkollektive (parenteral: II, oral: III), da sie in Triparanol- und Kontrollserie zahlenmäßig in annähernd gleichem Verhältnis zueinander stehen, zusammengefaßt und in der Gesamtheit beurteilt.

Vergleich der Triparanolkollektive (V + VI) zu den entsprechenden Kontrollgruppen (II + III):

Tabelle 2 - II + III/V + VI

Die Enzymaktivitäten des Triparanol-Kollektivs liegen, gegenüber den Kontrollgruppen nicht signifikant unterschieden, gering (GAPDH, LDH, G-6-PDH) bis mäßig (PK, GDH, HAD) höher.

3. Histologie

Kontrollgruppen II und III: unauffällige, normale Epidermis

Triparanol 17 Tage parenteral und oral (V + VI)

Das histologische Bild der Epidermis der drei überlebenden Tiere ist wechselnd und reicht von auffällig starker Hyperorthokeratose mit durchgehender Verbreiterung des Stratum granulosum bis zum nur vereinzelt Auftreten hyperorthokeratotischer Bezirke. In einem Fall

lag eine deutliche Atrophie der Epidermis vor.

Versuchsreihe C

Auf Grund der Tierverluste in den Kollektiven, die Injektionen unterworfen waren, wurde Triparanol, das nach histologischen und enzymatischen Befunden der beiden ersten Versuchsreihen sowohl parenteral als auch oral angewandt, gleiche Wirksamkeit entfaltet, in der letzten Versuchsreihe nur oral verabreicht.

Triparanol Anwendung oral über 17 Tage:

Triparanol-Gruppe VI - 5 Tiere

Entsprechendes Kontroll-Kollektiv:

Kontroll-Gruppe III - 5 Tiere

Zusätzliches Kontroll-Kollektiv:

Kontroll-Gruppe I - 3 Tiere

Die Tiere der Kontroll-Gruppe I wurden im Gegensatz zu III (Pulverfutter) bei Normalfutter gehalten, um Einflüsse der Ernährung zu erfassen.

1. Wachstum und Entwicklung:

Die Ausgangsgewichte zu Beginn der Versuchsperiode lagen bei 190 - 280 gr. Während sich die Tiere beider Kontrollgruppen gleich gut entwickelten, zeigten jene, die Triparanol bekamen (VI), deutlich eine geringere Gewichtszunahme. Die Endgewichte am Tage der Materialgewinnung lagen dementsprechend in dieser Gruppe niedriger.

III - Kontroll-Gruppe (Pulverfutter):

tägl. Gew. Zunahme: 7,5-10,0 gr; Endgewichte: 350-400 gr

I - Kontroll-Gruppe (Normalfutter):

tägl. Gew. Zunahme: 6,5-11,0 gr; Endgewichte: 330-400 gr

VI - Triparanol-Gruppe (17 Tage oral):

tägl. Gew. Zunahme: 1,2-5,5 gr; Endgewichte: 200-320 gr

Gesamtzahl der Tiere: 12; keine Verluste

Bei einem Tier der Trip. Gruppe führte ein diffuser Haarausfall am gesamten Körper zu spärlicher Behaarung.

2. Enzyme:

Ergebnisse der Messungen und Auswertung: Tabelle 3

Kontrolltiere:

Vergleich beider Kontrollgruppen (Normalfutter/Pulverfutter):

Tabelle 3 - I/III

In der bei Pulverfutter gehaltenen Tiergruppe liegen die Aktivitäten sämtlicher Enzyme gering bis mäßig niedriger, ohne sich signifikant von der mit Normalfutter ernährten Gruppe zu unterscheiden.

Triparanol 17 Tage oral (VI):

Vergleich zum entsprechenden Kontrollkollektiv (III):

Tabelle 3 - III/VI

Im Vergleich zum Kontrollkollektiv liegen in der Triparanol-Gruppe bei stärkerem Abfall der Aktivität von PK (-26%) die Aktivitäten der übrigen glykolytischen Enzyme gering (LDH -2%) bis mäßig (GAPDH -10%) niedriger, die Aktivitäten von GDH (+47,5%) und HAD (+23%) jedoch beträchtlich höher. Diese Unterschiede sind nicht signifikant. Die Aktivität der G-6-PDH ist in beiden Gruppen nahezu gleich.

3. Histologie:

Kontrollgruppen I und III: unauffällige, normale

Epidermis

Triparanol 17 Tage oral (VI):

Das histologische Bild zeigt stets Veränderungen, allerdings wechselnden Ausmaßes. Von einer auffällig starken Hyperorthokeratose mit durchgehender Verbreiterung des Stratum granulosum finden sich alle Übergänge bis zum nur vereinzelt Auftreten hyperorthokeratotischer Bezirke mit geringgradig verbreitertem bis weitgehend unauffälligem Stratum granulosum. In einem Fall sind stellenweise Follikelkeratosen zu beobachten. Die mäßiggradige Keratose eines Tieres zeigt eine deutlich bandförmige Anordnung der Zellen.

3. DISKUSSION

3.1. Material und Methodik

Nach Beschreibung verschiedener Autoren ist Triparanol im Tierversuch bei oraler (4, 5, 6, 7, 20, 23, 40, 41, 87) als auch bei parenteraler (29) Applikation subcutan (5, 57) und intramuskulär (23), in Olivenöl gelöst, gleich gut wirksam.

Zum Nachweis der Hemmung der Cholesterinsynthese im Gewebe wird von vielen Autoren die Verabreichung von 5mg/die oder 25 mg/kg/die bei Ratte (3, 5, 6, 7, 29, 57) und Meerschweinchen (30, 87) angewendet und als ausreichend bestätigt. Bei der Ratte führte schon 6 tägige Verabreichung zu einem Abfall des Serum-Cholesterins auf Werte, wie auch bei Langzeitzufuhr feststellbar (5), die Gabe über 10 Tage ließ mit Sicherheit eine Hemmung der Cholesterinsynthese der Leber erkennen (6, 7, 29, 57).

In unseren Versuchen liegt die Anwendungsdauer mit 10 und 17 Tagen über der epidermalen Regenerationszeit von 8 Tagen im Bereich der untersuchten Rumpfhaut. Wir dürfen daher annehmen, daß zum Zeitpunkt der Hautgewinnung sämtliche lebenden epidermalen Zellen im gewonnenen Material in allen Phasen der Reduplikation und Reifung unter der Einwirkung von Triparanol standen.

Bei Verabreichung einer einheitlichen Dosis von 5 mg/die betrug bei unterschiedlichen Gewichten der Tiere die auf das Körpergewicht bezogene Menge Triparanol 15 - 35 mg/kg/die. Da als minimale Wirkdosis (gemessen am Serum-Cholesterin-Abfall) bei Ratten 2 mg/kg/die angegeben wird (45), darf die Dosierung als ausreichend betrachtet werden, gerät aber für jüngere Tiere in den Bereich, ab welchem (37,5 mg/kg/die) bei weiblichen Ratten toxische Nebenwirkungen, wie Verminderung der Gewichtszunahme und Reduktion des Allgemeinzustandes, beschrieben werden (45).

3.2. Versuchsanordnung und Methode der Auswertung

Die vergleichende Betrachtung identischer Kontroll-Kollektive, die in jahreszeitlich getrennten Versuchsreihen vertreten sind, zeigt bei stets un-

auffälligem und normalem histologischem Bild der Epidermis signifikante Unterschiede der Gruppen in Bezug auf die epidermalen Aktivitäten mancher Enzyme (Tabelle 4). Von den insgesamt höheren Aktivitätsgehalten in den Versuchsreihen B und C darf auf einen, zumindest in den durch die Messungen erfaßten Abschnitten, intensiveren Ablauf des Stoffwechsels geschlossen werden.

Als ursächlicher Faktor wäre die jahreszeitliche Rhythmik, der die Epidermis des Tieres in Bezug auf Regeneration und damit auch Stoffwechsel unterworfen ist, in Erwägung zu ziehen. Zudem sind die Altersunterschiede zu berücksichtigen. Die Tiere der Versuchsreihe B waren in der Gesamtheit jünger.

Die Hypothese eines hinsichtlich der Größe des Substratflusses in den untersuchten Stoffwechselabschnitten in allen Versuchsreihen identischen Population der Kontrollkollektive wird daher nicht verfolgt.

Innerhalb der Versuchsreihen sind zwischen den Kontrollgruppen, die entsprechend den Triparanol-Tieren unter verschiedenen Versuchsbedingungen gehalten wurden, bezüglich Wachstum und Entwicklung, sowie enzymatischem Gehalt der Epidermis beträchtliche Unterschiede, bei wiederum unauffälligem, normalem histologischem Bild, festzustellen. Tierkollektive, die täglichen Injektionen unterworfen waren, - parenterale Kontrollgruppen (II in Versuchsreihe A und B) -, gediehen deutlich schlechter im Vergleich zu den übrigen, ihre Enzymaktivitäten lagen unterschiedlich, meist gering höher (Tabelle 1-I/II, Tabelle 2 -III/II), bei isolierter, stärkerer Verminderung der Aktivität von PK (in Versuchsreihe B gegenüber der oralen Kontrollgruppe signifikant erniedrigt).

Zwischen unterschiedlich ernährten oralen Kontrollkollektiven (I und III in Versuchsreihe C) sind nur nicht signifikante Unterschiede des epidermalen Aktivitätsgehaltes zu verzeichnen (Tabelle 3 - I/III). Die Aktivitäten aller gemessenen Enzyme der mit Pulverfutter ernährten Tiere (III) lagen im Vergleich zu jenen, die bei Normalfutter gehalten wurden (I), etwas niedriger.

Auswirkungen der Injektionsbehandlung und Ernährung auf Stoffwechsel, Wachstum und Entwicklung der Tiere sind demnach zu folgern.

Um diese Einflüsse - jahreszeitliche Rhythmik, sowie unterschiedliche Ernährung und Behandlung - auszuschließen, werden die Triparanol-Kollektive daher ausschließlich im Vergleich zu den ihnen entsprechenden Kontroll-Kollektiven innerhalb der gleichen Versuchsreihe betrachtet.

3.3. Wirkungen von Triparanol

3.3.1. Besprechung der eigenen Ergebnisse

Hinsichtlich der Auswirkungen von Triparanol auf die untersuchten Bereiche der enzymatischen Organisation der Meerschweinchenepidermis erlauben unsere Befunde auf Grund der geringen Zahl der Tiere in den miteinander zum Vergleich herangezogenen Kollektiven in der Regel nur, Tendenzen im Verhalten der Aktivitäten festzustellen. Die zum Teil beträchtlichen Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Gruppen sind bei den relativ großen Schwankungen der Einzelaktivitäten mit einer Ausnahme (HAD) nicht signifikant.

Die 10 tägige Anwendung von Triparanol scheint zur Erzielung auswertbarer Ergebnisse nicht ausreichend zu sein. Histologisch ichtyosiforme Veränderungen sind, entsprechend den enzymatischen Befunden, nur andeutungsweise zu beobachten.

Generell läßt sich bei den Kollektiven 17 tägiger Triparanol-Applikation in allen Versuchsreihen eine Anhebung der Aktivitäten von HAD und GDH gegenüber den Kontrollkollektiven feststellen. Das Ausmaß der Erhöhung ist für beide Enzyme unterschiedlich und läßt keine Parallelität erkennen.

Für HAD ist allein in Versuchsreihe A die Aktivität mit 52% signifikant erhöht, in Versuchsreihe B (+ 16%) und C (+ 23%) sind die Unterschiede nicht signifikant.

Für GDH läßt sich unter Triparanol in allen Versuchsreihen nur die einheitliche Tendenz einer - nicht signifikanten - Erhöhung der Aktivität feststellen (Versuchsreihe A: + 14%; B: + 19%; C: + 47,5%).

Die Aktivitäten von GAPDH und LDH sind unter Triparanol geringgradiger, untereinander stets gleichsinnig, aber in den Versuchsreihen in wechselnder Richtung verändert: Anstieg in Versuchsreihe A und B, Abfall in Ver-

suchsreihe C.

PK, den beiden glykolytischen Enzymen funktionell eng verbunden, weist extrem hohe Schwankungen der Einzelaktivitäten, sowohl in der Triparanol- als auch in der Kontrollserie auf. Die Unterschiede der Mittelwerte sind somit kaum zu bewerten.

G-6-PDH ist unter Triparanol in ihrer Aktivität meist nur gering, stets gleichsinnig zum Verhalten von GAPDH und LDH verändert.

Als wesentlich läßt sich zusammenfassend eine unter Triparanol stete Erhöhung der Aktivitäten von HAD und GDH feststellen, die auch in den Fällen eines gleichzeitigen Anstiegs von GAPDH und LDH (Versuchsreihe A und B) jene relativ übertrifft. Eine Abhängigkeit des Verhaltens der Aktivitäten von GAPDH, LDH, PK und G-6-PDH von Triparanol ist nicht zu beobachten.

Wir schließen aus der Änderung des Aktivitätsgehalts auf Änderungen des Substratflusses in dem durch das betreffende Enzym repräsentierten Stoffwechselabschnitt:

Eine Veränderung der Flußraten in Pentosephosphatcyclus (G-6-PDH) und Glykolyse im Gesamt- (GAPDH) und anäroben Verlauf (LDH) sowie auf der Stufe des Pyruvats an der Anschlußstelle zum Aminosäurestoffwechsel (PK) ist unter Triparanol nicht sicher nachzuweisen.

Demgegenüber scheint die Fettsäureoxydation (HAD) sowohl absolut (Versuchsreihe A: + 52%; B: + 16%; C: + 23%), als auch relativ (Versuchsreihe A: + 38%; B: + 15%; C: + 33%) zur Glykolyse (GAPDH) verstärkt abzufließen.

Das höhere Niveau der Aktivität von GDH auf eine stärkere Kapazität des Glycerin-1-phosphat-Cyclus zurückzuführen, erscheint wenig gerechtfertigt. Lediglich bei isolierter Betrachtung der Versuchsreihe A würde die relativ stärkere Zunahme der Aktivitäten von GAPDH (+ 14%) und GDH (+ 14%) gegenüber jener von LDH (+ 2%) die Deutung eines stärkeren Ablaufs des G-1-P-Cyclus zulassen. Anders in Versuchsreihe B und C: bei stärkerer Ausprägung der Aktivität von LDH (in B: + 4%; in C: - 7%) gegenüber GAPDH (in B: + 1%; in C: - 10%) ist ein leicht vermehrt anärober Ablauf der Glykolyse wahrscheinlicher. Es erscheint daher berechtigt, die gleichzeitig stärkere Zunahme der Aktivität von GDH (Versuchsreihe B: + 19%; C: + 47,5%)

in Beziehung zur Verbindungsfunktion dieses Enzyms zwischen Glykolyse und Fettstoffwechsel zu setzen, und entweder eine stärkere Verwendung von Dihydroxyacetonphosphat als Glycerin-1-phosphat, Baustein der Triglyceride und Phospholipide zu erwägen, oder umgekehrt einen verstärkten Abbau oder Umbau dieser Lipide in Betracht zu ziehen.

Zur direkten Beurteilung einer Beteiligung des G-1-P-Cyclus am Verhalten der GDH wäre zusätzlich die Erfassung der GP-Ox (Glycerin-1-phosphat-Oxydase) erforderlich.

Unsere Untersuchungen erlauben nur, aus den Veränderungen der Enzymaktivitäten auf Änderungen des Substratflusses im Bereich des durch das Enzym repräsentierten Stoffwechselabschnittes zu schließen. Sie geben keinen Aufschluß über Art und Ort der Wirkung von Triparanol. Vermehrte oder verminderte Flußraten können Ausdruck der Anpassung an einen unter Triparanol veränderten Bedarf an Reaktionsprodukten oder Energie (ATP) am Ort des Verbrauchs sein. Sie können auch durch Einwirkung von Triparanol auf die beteiligten Enzymsysteme des untersuchten Stoffwechselbereichs selbst zustande kommen - sei es direkt durch Hemmung oder Aktivierung vorhandenen Enzyms oder durch Einflußnahme auf die Enzymproteinsynthese - und sekundär wiederum Auswirkungen auf den Stoffwechsel an anderer Stelle im Gefolge haben.

Die beschriebenen Veränderungen enzymatischer Aktivitäten unter Triparanol sind insgesamt mit einem absolut und relativ zur Glykolyse erhöhten Ablauf der Fettsäureoxydation vereinbar und weisen auf einen fraglich vermehrten Substratfluß zwischen Glykolyse und Fettstoffwechsel hin.

Diesen Befunden stehen morphologisch faßbare Alterationen der Epidermis gegenüber: Das histologische Bild erinnert, aber entspricht nicht exakt der Ichtyosis: Hyperorthokeratose mit Verbreiterung des Stratum granulosum, gelegentlich Follikelkeratose, auch Atrophie der Epidermis.

Die histologischen Veränderungen sind unterschiedlich ausgeprägt und entsprechen damit den wechselnden enzymatischen Befunden mit stärkeren Streuungen der Aktivitäten von HAD und GDH in den Triparanol-Tiergruppen. (In den Tabellen 1-3 beurteilbar am Verhältnis Standardabweichung/Mittelwert der Aktivitäten).

Eine ungleichmäßige Reaktionsbereitschaft der Epidermis auf Triparanol ist zur Deutung dieser Schwankungen in Betracht zu ziehen.

Zur Untersuchung Triparanol-induzierter Enzymaktivitätsveränderungen erscheint das Versuchsmodell mit langfristiger oraler Verabreichung (Triparanol oral über 17 Tage: Triparanol-Gruppe VI) am meisten geeignet. Die orale Zufuhr vermeidet, wie aus histologischen und enzymatischen Befunden ersichtlich, bei gleicher Wirksamkeit das mit einer höheren Komplikationsrate behaftete Risiko der Injektionsbehandlung (Tiergruppen II und V in Versuchsreihe B). Bei kürzerer Anwendung (10 Tage) sind enzymatische und übereinstimmend damit auch histologische Veränderungen noch kaum ausgeprägt (Versuchsreihe A).

3.3.2. Eigene Ergebnisse in Beziehung zu den Befunden anderer Autoren

Nach Berichten verschiedener Autoren führt Triparanol zu einer Steigerung der Fettsäuresynthese bei gleichzeitiger Verminderung der Synthese von Cholesterin (7), sowie zu einer Erhöhung des Gehalts von Serum und Gewebe an Triglyceriden (3, 4, 48) bei Absinken des Gehalts an Phospholipiden (3, 4, 5, 48). Bei Übertragung der Ergebnisse unserer Enzymuntersuchungen auf diese Befunde liegt es nahe, den stärkeren Ablauf der Fettsäureoxydation mit einer vermehrten Verwendung von Acetyl-CoA zur Resynthese von Fettsäuren in Beziehung zu bringen. Zur Klärung der Verwendung des unter Triparanol vermehrt in der Fettsäureoxydation anfallenden Acetyl-CoA bedarf es der Einbeziehung der entsprechenden weiterführenden Stoffwechselwege in die Untersuchungen (Enzyme des Citratcyclus und der Fettsäuresynthese).

Für die Erhöhung der Aktivität von GDH, Ausdruck einer vermehrten Umsetzung von Triosephosphat in Glycerinphosphat und umgekehrt, kann in diesem Zusammenhang eine stärkere Neubildung der Triglyceride bei eventuell gleichzeitigem Ab- und Umbau der Phospholipide diskutiert werden.

Bei Triparanol induzierter Ichtyosis wird beim Menschen histologisch

eine Hyperkeratose mit Fehlen oder Verminderung des Stratum granulosum beschrieben (1, 100). In unseren Untersuchungen dagegen findet sich in der Regel eine Verbreiterung des Stratum granulosum im Bereich der hyperorthokeratotischen Bezirke.

Die in unseren Versuchen wesentlich kürzere Anwendungsdauer (17 Tage) gegenüber jener der oben angeführten Autoren (1 Monat und länger) ist bei Bewertung des Unterschiedes zu berücksichtigen.

Triparanol führte in allen Kollektiven zu einer Verminderung der Gewichtszunahme, in drei Fällen auch zu progredienter, diffuser generalisierter Alopecie. Diese Befunde stehen in voller Übereinstimmung zu den Berichten anderer Untersucher, die diese Erscheinungen als toxische Nebenwirkungen beschreiben (1, 3, 4, 15, 23, 41, 45, 49, 62, 83, 100).

4. ZUSAMMENFASSUNG

Die Auswirkungen von Triparanol auf Histologie und Gehalt der Epidermis an Aktivitäten der Enzyme GAPDH, LDH, PK, G-6-PDH, GDH und HAD wurden am Meerschweinchen untersucht.

Tiergruppen erhielten Triparanol sowohl oral als auch parenteral über 10 und 17 Tage und wurden Kontrollgruppen zur vergleichenden Betrachtung der Befunde gegenübergestellt.

Nach 17 Tagen waren im Vergleich zur 10 tägigen Anwendung histologische und enzymatische Befunde ausgeprägter. Unterschiede zwischen oraler und parenteraler Wirksamkeit von Triparanol waren nicht festzustellen. Tierverluste traten nur bei der Injektionsbehandlung auf. Am geeignetsten erwies sich daher das Modell der 17 tägigen oralen Triparanol-Zufuhr.

Veränderungen der Aktivitäten von GAPDH, LDH und PK (glykolytische Enzyme), sowie von G-6-PDH (Eingangsenzym des Pentosephosphatcyclus) in Abhängigkeit von Triparanol konnten nicht nachgewiesen werden. Dagegen fand sich stets eine Erhöhung der Aktivitäten von HAD (Bezugsenzym der Fettsäureoxydation) und GDH (Verbindungsenzym von Glykolyse und Fettstoffwechsel). Die Aktivitätserhöhung des Enzyms HAD war stets absolut und relativ stärker als die des Enzyms GAPDH. Dieser Befund ist vereinbar mit der Annahme eines sowohl absolut als auch relativ zur Glykolyse stärkeren Ablaufs der Fettsäureoxydation. Die Aktivitätserhöhung des Enzyms GDH war nicht signifikant. Ein vermehrter Substratfluß zwischen Glykolyse und Lipidstoffwechsel ist fraglich.

Die histologischen Veränderungen entsprachen einer Hyperorthokeratose mit Verbreiterung des Stratum granulosum.

Triparanol führte zu einer Verminderung der Gewichtszunahme der Tiere, in einigen Fällen zur Entwicklung einer diffusen, generalisierten Alopecie.

5. LITERATURVERZEICHNIS

1. Achor, R.W.P., R.K. Winkelmann, and H.O. Perry: Cutaneous side effects from use of triparanol (MER-29): Preliminary data on ichthyosis and loss of hair.
Proc.Mayo Clin. 36, 217-228 (1961)
2. Avigan, J., D.S. Goodman, and D. Steinberg: Studies of cholesterol biosynthesis. IV. Reduction of lanosterol to 24,25-dihydrolanosterol by rat liver homogenates.
J.Biol.Chem. 238, 1283-1286 (1963)
3. Avigan, J., D. Steinberg, M.J. Thompson, and E. Mosettig: The mechanism of action of MER-29.
Progr.Cardiovasc.Dis. 2, 525-530 (1960)
4. Avigan, J., D. Steinberg, H.E. Vroman, M.J. Thompson and E. Mosettig: Studies of cholesterol biosynthesis. I. The identification of desmosterol in serum and tissues of animals and man treated with MER-29.
J.Biol.Chem. 235, 3123-3126 (1960)
5. Blohm, T.R., T. Kariya, and M.W. Laughlin: Effects of MER-29, a cholesterol synthesis inhibitor, on mammalian tissue lipids.
Arch.Biochem. 85, 250-263 (1959)
6. Blohm, T.R., T. Kariya, and R. MacKenzie: I. Excretory products of the sterol biosynthetic pathway in the MER-29 treated rat. II. Excretion of MER-29.
Progr.Cardiovasc. Dis. 2, 519-523 (1960)
7. Blohm, T.R., and R.D. MacKenzie: Specific inhibition of cholesterol biosynthesis by a synthetic compound (MER-29).
Arch.Biochem. 85, 245-249 (1959)
8. Braun-Falco, O.: Zur Histotopographie der Cytochromoxydase in normaler und pathologisch veränderter Haut sowie in Hauttumoren.
Arch.klin.exp.Derm. 214, 176-224 (1961)

9. Braun-Falco, O.: Histochemische Morphologie der abnormalen Verhornung.
Proc. XII. Int. Congr. Derm., Washington D.C. 1962, in:
Excerpta med. Int. Congr. Series No. 55, p. 416-422
10. Braun-Falco, O., und E. Christophers: Psoriasiforme Epidermis-Reaktion der Meerschweinchenhaut durch örtliche Vitamin-A-Säure-Applikation.
Arch. klin. exp. Derm. 234, 70-86 (1969)
11. Braun-Falco, O., und G. Rassner: Zur morphologischen und funktionellen Organisation der menschlichen Epidermis.
Jahrbuch Marburger Universitätsbund 5/6, 79-104 (1966/67)
12. Braun-Falco, O., und B. Ratjens: Histochemische Darstellung der Bernsteinsäuredehydrogenase in der menschlichen Haut.
Derm. Wschr. 130, 1271-1276 (1954)
13. Brody, I.: An electron microscopic investigation of the keratinization process in the epidermis.
Acta dermat. venereol. 40, 74-84 (1960)
14. Brooks, S.C., and C.A. Baumann: Skin sterols. XIII. Incorporation of acetate into various sterols by skin slices.
J. Biol. Chem. 229, 329-336 (1957)
15. Brunsting, L.A., R.R. Kierland, H.O. Perry, and R.K. Winkelmann: Hyperlipemia. Triparanol (MER-29) effect.
Arch. Derm. 85, 672 (1962)
16. Bücher, Th.: Redoxbeziehung des α -Glycerophosphat.
Sitzungsber. d. Ges. z. Beförderung d. ges. Naturwiss. z. Marburg 83/84, 383-414 (1963)
17. Bücher, Th., und M. Klingenberg: Wege des Wasserstoffs in der lebendigen Organisation
Angew. Chem. 70, 552-570 (1958)

18. Bücher, Th., W. Luh, und D. Pette: Einfache und zusammengesetzte optische Teste mit Pyridinnucleotiden.
In Hoppe-Seyler/Thierfelder: Hb.d.physiol.u.pathol.-chem. Analyse, Bd. 6/A, S. 292-339. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1964
19. Buell, H.V., O.H. Lowry, N.R. Roberts, M.W. Chang, and J.I. Kapphahn: The quantitative histochemistry of the brain.
J.Biol.Chem. 238, 979-993 (1958)
20. Clayton, R.B., A.N. Nelson, and I.D. Frantz, Jr.: The skin sterols of normal and triparanol-treated rats.
J.Lipid Res. 4, 166-176 (1963)
21. Cruickshank, C.N.D.: Metabolic processes in skin.
Brit.J.Derm. 77, 603-609 (1965)
22. Dempsey, M.E.: Pathways of enzymic synthesis and conversion to cholesterol of $\Delta 5, 7, 24$ -cholestatrien- 3β -ol and other naturally occurring sterols.
J.Biol.Chem. 240, 4176-4188 (1965)
23. Eisalo, A., and S. Talanti: On the effect of triparanol on the adrenal cortex of the rat: a histochemical study.
J.Pharmacol.Exp.Ther. 137, 380-386 (1962)
24. Enzyme nomenclature. Recommendations 1964 of the International Union of Biochemistry.
Amsterdam, London, New York: Elsevier Publ.Comp. 1965
25. Flesch, P.: Chemical data on human epidermal keratinization and differentiation.
J.Invest.Derm. 31, 63-73 (1958)
26. Flesch, P.: Inhibition of keratinizing structures by synthetic drugs.
Pharmacol.Rev. 15, 653-671 (1963)

27. Flesch, P., and E.C.J. Esoda: Isolation of glycoproteolipid from human horny layers.
J.invest.Derm. 39, 409-415 (1962)
28. Frantz, I.D., and M.L. Mobberley: $\Delta^{7,24}$ -cholestadien-3 β -ol, a probable intermediate in cholesterol synthesis.
Fed.Proc. 20, 285 (1961)
29. Frantz, I.D.Jr., M.L. Mobberley, and G.I. Schroepfer, Jr.: Effects of MER-29 on the intermediary metabolism of cholesterol.
Progr.Cardiovasc.Dis. 2, 511-518 (1960)
30. Frantz, I.D.Jr., A.T. Sanghvi, and R.B. Clayton: Detection of a sterol with a probable structure $\Delta^{5,7,24}$ -cholestatrienol in the intestinal wall of guinea pigs treated with triparanol.
J.Biol.Chem. 237, 3381-3383 (1962)
31. Freinkel, R.K.: Metabolism of glucose-C-14 by human skin in vitro.
J.invest.Derm. 34, 37-42 (1960)
32. Freinkel, R.K.: Carbohydrate metabolism in the skin.
In: W. Montagna and W.C. Lobitz: The epidermis.
New York: Academic Press Inc. 1964
33. Gans, O., und G.K. Steigleder: Histologie der Hautkrankheiten.
Berlin: Springer Verlag 1955
34. Gaylor, J.L.: Biosynthesis of skin sterols. II. Reduction of Δ^{24} -unsaturated sterols of rat skin.
Arch.Biochem. 101, 108-115 (1963)
35. Gillette, J.R., and L. Davenport: Inhibition by triparanol (MER-29) of microsomal enzyme system that metabolize drugs.
Fed.Proc. 20, 173 (1961)

36. Glasenapp, I.v., und G. Leonhardi: Über den Cholesterinstoffwechsel in der gesunden und der psoriatish veränderten Haut.
Arch.Dern.Syph. 196, 148-154 (1953)
37. Gould, R.G., and C.B. Taylor: Effects of dietary cholesterol on hepatic cholesterol synthesis.
Fed.Proc. 9, 179 (1950)
38. Grundmann, E.: Allgemeine Cytologie.
Stuttgart: G. Thieme 1964
39. Hollander, W., A. V. Chobanian, and R.W. Wilkins: The effects of triparanol (MER-29) in subjects with and without coronary artery disease.
J.Am.Med.Assoc. 174, 5-12 (1960)
40. Hollander, W., A.V. Chobanian, and R.W. Wilkins: The cholesterol lowering effects of triparanol (MER-29) in subjects with and without coronary artery disease.
Progr.Cardiovasc. Dis. 2, 637-644 (1960)
41. Holloszy, J., and A.B. Eisenstein: Effects of triparanol (MER-29) on corticosterone secretion by rat adrenals.
Proc.Soc.Exper.Biol.Med. 107, 347-349 (1961)
42. Horlick, L., and J. Avigan: Sterols of skin in the normal and triparanol-treated rat.
J.Lipid Res. 4, 160-165 (1963)
43. Kandutsch, A.A.: Sterol metabolism in skin and epidermis.
In: W. Montagna and W.C. Lobitz: The epidermis, p. 494-510
New York, London: Academic Press Inc. 1964
44. Karlson, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
Stuttgart: G. Thieme 1966
45. King, W.M.: The toxicology of MER 29.
Progr. Cardiovasc. Dis. 2, 504-508 (1960)

46. Kirby, T.J., R.W.P. Achor, H.O. Perry, and R.K. Winkelmann:
Cataract formation after triparanol therapy.
Arch.ophtal. 68, 486 (1962)
47. Klingenberg, A., and Th. Bücher: Biological oxidations.
Ann.Rev.Bioch. 29, 669-708 (1960)
48. Knüchel, F.: Klinische und biochemische Untersuchungen über
die Wirkung von Triparanol (Merrell-29).
Med. Welt 7, 367-376 (1962)
49. Laughlin, R.C., and T.F. Cavey: Cataracts of patients treated
with triparanol.
J.Am.Med.Assoc. 181, 339 (1962)
50. Leckert, J.T., G. McHardy, R.McHardy, G.E. Welch, and
H. Gradic: The treatment of hypercholesterolemia by inter-
ference with cholesterol biosynthesis using MER-29.
J. Louisiana Med.Soc. 112, 259-265 (1960)
51. Leckert, J.T., G. McHardy, R.McHardy, G.E. Welch, and H.
Cradic: Clinical evaluation in hypercholesterolemia and
atherosclerosis.
Progr.Cardiovasc.Dis. 2, 571-575 (1960)
52. Lorincz, A.L., and R.B. Stoughton: Specific metabolic
processes in skin.
Physiol.Rev. 38, 481-502 (1958)
53. Marghescu, S.: Über das Lactatdehydrogenase-Zymogramm in
Hornschicht, Epidermis und Blutserum unter normalen Bedin-
gungen und bei Psoriasis.
Arch.klin.exp.Derm. 225, 163-169 (1966)
54. Melby, J.C., M.St. Cyr, and S.L. Dale: Reduction of adrenal-
steroid production by an inhibitor of cholesterol biosynthesis.
New England J.Med. 264, 583-587 (1961)

55. Mercer, E.H.: Keratin and keratinization. An essay in molecular biology.
Oxford, London, New York, Paris: Pergamon Press 1961
56. Mittenecker, E.: Planung und statistische Auswertung von Experimenten. Eine Einführung für Psychologen, Biologen und Mediziner.
Wien: Deuticke 1968
57. Mobberley, M.L., and I.D. Frantz, Jr.: Observations concerning the site of inhibition of cholesterol synthesis by MER-29.
Circulation 20, 965 (1959)
58. Nicolaides, N.: Lipids, membranes and the human epidermis.
In W. Montagna and W.C. Lobitz: The epidermis, p. 511-538
New York, London: Academic Press Inc. 1964
59. Nicolaides, N., and S. Rothman: The site of sterol and squalene synthesis in the human skin.
J.invest.Derm. 24, 125-131 (1955)
60. Odland, G.F.: Tonofilaments and keratohyalin. In W. Montagna and W.C. Lobitz: The epidermis, p. 237-249
New York, London: Academic Press Inc. 1964
61. Palopoli, F.D.: Basic research leading to MER-29.
Progr.Cardiovasc. Dis. 2, 489-491 (1960)
62. Perry, H.O., R.K. Winkelmann, R.W.P. Achor, and T.J. Kirby, Jr.: Side effects of triparanol therapy.
Am.J.Med.Sci. 244, 556-563 (1962)
63. Pette, D.: Plan und Muster im zellulären Stoffwechsel.
Naturwissenschaften 52, 597-616 (1965)
64. Pette, D., and Th. Bücher: A constant-proportion group in the enzyme activity pattern of the Embden-Meyerhof chain.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 7, 419-424 (1962)

65. Pette, D., und Th. Bücher: Proportionskonstante Gruppen in Beziehung zur Differenzierung der Enzymaktivitätsmuster von Skelettmuskeln des Kaninchens.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem. 331, 180-195 (1963)
66. Pette, D., M. Klingenberg, and Th. Bücher: Comparable and specific proportions in the mitochondrial enzyme activity pattern.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 7, 425-429 (1962)
67. Pette, D., and W. Luh: Constant-proportion groups of multiloculated enzymes.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 8, 283-287 (1962)
68. Pollard, W.O., M.S. Shorb, P.G. Lund, and V. Vasaitis:
Effect of triparanol on synthesis of fatty acids by Tetrahymena pyriformis.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 116, 539-543 (1964)
69. Rapoport, S.M.: Medizinische Biochemie
Berlin: VEB Verlag Volk und Gesundheit 1965
70. Rassner, G.: Zur enzymatischen Organisation des energieliefernden Stoffwechsels der normalen Meerschweinchenhaut. I. Teil: Methodische Angaben zur Aktivitätsbestimmung von Enzymen in Meerschweinchenhaut.
Arch.klin.exp.Derm. 222, 383-390 (1965)
71. Rassner, G.: Zur enzymatischen Organisation des energieliefernden Stoffwechsels der normalen Meerschweinchenhaut. II. Teil: Aktivitätsbestimmungen von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels.
Arch.klin.exp.Derm. 222, 391-402 (1965)
72. Rassner, G. und O. Braun-Falco: Zur enzymatischen Organisation des energieliefernden Stoffwechsels der normalen Meerschweinchenhaut. III. Teil: Aktivitätsbestimmungen epidermaler Enzyme des Citronensäurecyclus und angeschlossener Reaktionen.
Arch.klin.eyp.Derm. 225, 170-180 (1966)

73. Rassner, G., und O. Braun-Falco: Glykolyse und Pentosephosphat-Zyklus in der Epidermis bei Psoriasis vulgaris.
Naturwissenschaften 52, 592 (1965)
74. Rassner, G.: Aktivitätsmuster von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in normaler menschlicher Epidermis und bei Psoriasis vulgaris.
I. Mitteilung. Enzymaktivitätsbestimmungen in normaler menschlicher Epidermis und klinisch nicht veränderter Epidermis bei Psoriasis vulgaris.
Arch.klin.exp.Derm. 225, 398-407 (1966)
75. Rassner, G.: Aktivitätsmuster von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in normaler menschlicher Epidermis und bei Psoriasis vulgaris.
II. Mitteilung. Enzymaktivitätsbestimmungen in klinisch veränderter Epidermis bei Psoriasis vulgaris.
Arch.klin.exp.Derm. 226, 111-120 (1966)
76. Rassner, G.: Zum Aktivitätsmuster von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in normaler und pathologisch veränderter Epidermis.
Wiss. Z. Ernst-Arndt-Univ. Greifswald Math.-Nat. 1/2, 101-105 (1967)
77. Rassner, G.: Untersuchungen zum Stoffwechsel der Epidermiszellen bei Acanthosen. I. Röntgen-Acanthose
Arch.klin.exp. Derm. 233, 425-429 (1969)
78. Rassner, G.: Untersuchungen zum Stoffwechsel der Epidermiszellen bei Acanthosen. II. Vergleichende enzymbiochemische Untersuchungen bei Acanthosen.
Arch.klin.exp.Derm. 233, 430-438 (1969)
79. Rassner, G.: Über die Fettsäureoxydation in der Epidermis. Quantitativ-biochemische Aktivitätsbestimmung des Enzyms 3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase.
Arch.klin.exp.Derm. 239, 6-11 (1970)

80. Rippa, M., and C. Vignali: The level of enzymes of the oxidative shunt and glycolysis in psoriatic skin.
J.invest.Derm. 45, 78-80 (1965)
81. Rook, A.: Some chemical influences on hair growth and pigmentation.
Brit.J.Derm. 77, 115-129 (1965)
82. Russek, H.I.: Effects of MER-29 on the pain experience and the electrocardiographic response to standard exercise in patients with coronary artery disease.
Progr.Cardiovasc. Dis. 2, 578-585 (1960)
83. Rust, G.D.: Toxizität und antiphlogistische Wirkung von Acetylsalicylsäure und Natriumsalicylat bei Ratten mit chemischer Adrenostase durch chronische MERRELL-29 (Triparanol)-Behandlung.
Med.Diss. Bonn 1968
84. Sallmann, L.v., P. Grimes, and E.Collins: Triparanol induced cataracts in rats.
Arch.ophtal. 70, 522-530 (1963)
85. Scott, E.J. van: Mechanical separation of the epidermis from the corium.
J.invest.Derm. 18, 377-379 (1952)
86. Scott, T.G., and V.C. Barber: An enzyme histochemical and biochemical study of the effect of an inhibitor of cholesterol synthesis on myelinating mouse brain.
J.Neurochem. 11, 423-429 (1964)
87. Shefer, S., S. Milch, and E.H. Mosbach: Biosynthesis of 5 α -cholestan-3 β -ol in rat and guinea pig liver in vitro.
J.Lipid Res. 6, 33-36 (1965)

88. Snell, R.: An electron microscopic study of keratinization in the epidermal cells of the guinea-pig.
Z.Zellforsch. 65, 829-846 (1965)
89. Srere, P.A., I.L. Chaikoff, S.S. Treitman, and L.S. Burstein:
The extra hepatic synthesis of cholesterol.
J.Biol.Chem. 236, 3137-3140 (1961)
90. Steinberg, D., J. Avigan, and E.G. Feigelson: Identification of 24-dehydrocholesterol in the serum of patients treated with MER-29.
Progr.Cardiovasc. Dis. 2, 586-592 (1960)
91. Steinberg, D., J. Avigan, and E.G. Feigelson: Effects of triparanol (MER-29) on cholesterol biosynthesis and on blood sterol levels in man.
J.Clin.Invest. 40, 884-893 (1961)
92. Stüttgen, G.: Die normale und pathologische Physiologie der Haut.
Stuttgart: Fischer 1965
93. Swanbeck, G.: Macromolecular organization of epidermal keratin. An X-ray diffraction study of the horny layer from normal, ichtyotic and psoriatic skin.
Acta derm.venereol. 39, Suppl. 43 (1959)
94. Swanbeck, G., and N. Thyresson: An X-ray diffraction study of scales from different dermatoses.
Acta derm. venereol. 41, 289-296 (1961)
95. Swanbeck, G., and N. Thyresson: A study of the state of aggregation of the lipids in normal and psoriatic horny layer.
Acta derm.venereol. 42, 445-457 (1962)
96. Teppermann, H.M., and J. Teppermann: Patterns of dietary and hormonal induction of certain NADP-linked liver enzymes.
Amer.J.Physiol. 206, 357-361 (1964)

97. Toro, J.: Evaluation of the administration of MER-29 to a group of institutionalized patients at the St. Louis chronic hospital; a preliminary report.
Progr.Cardiovasc. Dis. 2, 544-547 (1960)
98. Weber, G.: Advances of enzyme regulation. Vol. I.
New York: Pergamon Press 1963
99. Wheatley, V.R.: The lipid contents of the psoriatic skin.
Proc. XII. Int.Congr.Derm.Washington D.C. 1962, in:
Excerpta Med.Int.Congr.Series No. 55, p. 157-160 (1962)
100. Winkelmann, R.K., H.O. Perry, R.W.P. Achor, and T.J. Kirby:
Cutaneous syndromes produced as side effects of triparanol therapy.
Arch.Derm. 87, 372-377 (1963)
101. Yardley, H.J., and G.Godfrey: Metabolism of phosphate esters and phospholipids in skin maintained in vitro.
J.invest.Derm. 43, 51-57 (1964)
102. Zelickson, A.S., and J.F. Hartmann: An electron microscopic study of human epidermis.
J.Invest.Derm. 36, 65-72 (1961)

Mein Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr.G. Rassner,
der mir das Thema überließ und mich bei der Durch-
führung der Arbeit mit Anregungen und Hilfe jederzeit
unterstützte.

Frau B. Wiemann-Wach danke ich für die tech-
nische Unterrichtung und die Mitarbeit bei der prak-
tischen Ausführung der Versuche.

Lebenslauf

Am 4. Juli 1944 wurde ich als Sohn des Papier-Ingenieurs Erhard Rüger und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Semmig, in Wurzen/Sachsen geboren.

März 1963 - Abitur am Staatl. Neusprachl. Gymnasium Koblenz

1963-1965 - Wehrdienst

1965-1971 - Studium der Medizin:

6 Semester Universität Freiburg i. Brsg.

1 Semester Medizinische Akademie Lübeck

2 Semester Universität Aix-Marseille

3 Semester Universität München

Juni 1971 - Medizinisches Staatsexamen Universität München

1971-1972 - Tätigkeit als Medizinalassistent:

Medizinische Poliklinik der Universität München

II. Chirurgische Abteilung

im Städt. Krankenhaus München-Schwabing

I. Frauenklinik der Universität München

